



Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Tin Weitner

**Kiselo-bazna i elektrokemijska svojstva
meso(ortho- i meta-N-alkilpiridil)
manganoporfirina**

Doktorski rad

Zagreb, 2010.

Ovaj doktorski rad predan je na ocjenu Fakultetskom vijeću Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja znanstvenog stupnja doktora znanosti iz područja biomedicina i zdravstvo, polje farmacija, grana farmacija.

Ovaj doktorski rad izrađen je na Zavodu za opću i anorgansku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod stručnim vodstvom prof. dr. Mladena Biruša.

Dvjema Dunjama i Zlatku

Zahvaljujem prof. dr. Mladenu Birušu na povjerenju, strpljivosti i razumijevanju, te nesebičnoj podršci tijekom izrade ovog rada.

Zahvaljujem dr. sc. Ines Batinić-Haberle na donaciji istraživanih manganoporfirina, brojnim stručnim savjetima te ugodnoj i plodonosnoj suradnji.

Zahvaljujem dr. sc. Zoranu Mandiću za veliku pomoć u izradi elektrokemijskog dijela ovog rada.

Također zahvaljujem kolegama sa Zavoda, dr. sc. Ani Budimir, dr. sc. Mariju Gabričeviću i dr. sc. Ivanu Kosu, jer bez njihove pomoći ne bi bilo moguće ostvariti ovaj rad.

Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Obrazloženje teme	5
2.1. Pregled dosadašnjih istraživanja manganoporfirinskih kompleksa	5
2.1.1. Oksidativni stres i antioksidansi	5
2.1.2. Metaloporfirinski mimetici SOD	6
2.2. Cilj i hipoteze istraživanja doktorskog rada.....	13
3. Metode	14
3.1. Kemijska ravnoteža	14
3.1.1. Ravnoteže u otopinama kiselina i baza	17
3.1.2. Elektrokemijska ravnoteža.....	20
3.1.3. Utjecaj temperature na kemijsku ravnotežu.....	22
3.2. Potenciometrija (PM)	23
3.2.1. Standardni elektrodni potencijal	24
3.2.2. Formalni potencijal	24
3.2.3. Apsolutni elektrodni potencijal.....	25
3.2.4. Referentne elektrode	25
3.2.4.1. Standardna vodikova elektroda	26
3.2.4.2. Ostale referentne elektrode.....	26
3.2.5. Indikatorske elektrode.....	27
3.2.5.1. Staklena elektroda.....	27
3.3. Ciklička voltometrija (CV).....	28
3.3.1. Osnove elektrodne kinetike.....	30
3.3.2. Izgled cikličkog voltamograma.....	36
3.3.3. Reverzibilni i ireverzibilni elektrokemijski sustavi	40
3.4. Kronokulometrija	44

3.5.	Spektrofotometrija u vidljivom i ultraljubičastom području (UV-Vis)	47
3.6.	Spektroelektrokemija (SEC)	50
4.	Rezultati	52
4.1.	Kemikalije i otopine	52
4.1.1.1.	Otopina natrijevog perklorata (NaClO_4)	53
4.1.1.2.	Otopina natrijevog hidroksida (NaOH)	53
4.1.1.3.	Otopina perklorne kiseline (HClO_4)	54
4.1.1.4.	Otopine za spektrofotometrijske titracije	54
4.1.1.5.	Otopine za cikličku voltametriju i spektroelektrokemiju	54
4.2.	Mjerni instrumenti	55
4.3.	Kiselo-bazna svojstva kompleksa $\text{MnTE-}m\text{-PyP}$ ($m = 2,3$)	58
4.3.1.	Određivanje konstanta disocijacije Mn(III)P spektrofotometrijskim titracijama ..	60
4.3.1.1.	Disocijacija Mn(III)TE-2-PyP	61
4.3.1.2.	Disocijacija Mn(III)TE-3-PyP	64
4.3.2.	Određivanje konstanta disocijacije Mn(II)P spektrofotometrijskim titracijama	67
4.3.2.1.	Disocijacija Mn(II)TE-2-PyP	67
4.3.2.2.	Disocijacija Mn(II)TE-3-PyP	71
4.3.3.	Određivanje konstanta disocijacije Mn(IV)P spektrofotometrijskim titracijama ..	74
4.3.3.1.	Disocijacija Mn(IV)TE-2-PyP	74
4.3.3.2.	Disocijacija Mn(IV)TE-3-PyP	77
4.3.4.	Određivanje termodinamičkih parametara disocijacije Mn(III)P i Mn(IV)P spektrofotometrijskim titracijama	80
4.3.5.	Ukupni rezultati određivanja konstanta disocijacije kompleksa $\text{MnTE-}m\text{-PyP}$ ($m = 2,3$) spektrofotometrijskim titracijama	83

4.4.	Elektrokemijska svojstva kompleksa MnTE- <i>m</i> -PyP (<i>m</i> = 2,3)	88
4.4.1.	Redukcija Mn(III)P askorbinskom kiselinom	88
4.4.2.	Oksidacija Mn(III)P oktacijanomolibdatom(V)	96
4.4.3.	Termodinamika oksidacije Mn(III)P oktacijanomolibdatom(V)	103
4.4.4.	Određivanje elektrokemijskih parametara redoks parova Mn(III)P/Mn(II)P i Mn(IV)P/Mn(III)P cikličkom voltametrijom	110
4.4.5.	Termodinamika elektroredukcije Mn(III)P	136
4.4.6.	Kronokulometrijsko mjerenje elektroredukcije Mn(III)P	142
4.4.7.	Spektroelektrokemijsko mjerenje redoks parova Mn(III)P/Mn(II)P	146
5.	Rasprava	151
6.	Zaključci	163
7.	Literatura	164
8.	Sažetak	168
9.	Summary	170
10.	Životopis	172
11.	Prilozi	175

1. Uvod

Posljednjih godina pojačano je zanimanje za istraživanjem oksidativnog stresa, odnosno neravnoteže između metaboličke proizvodnje reaktivnih molekula koje oštećuju stanične komponente (proteine, lipide i nukleinske kiseline) i sposobnosti stanica da reaktivne metabolite uklanjaju ili popravljaju nastala oštećenja. Molekulne vrste koje uzrokuju oksidativni stres su reaktivne vrste kisika (ROS, engl. *Reactive Oxygen Species*) i dušika (RNS, engl. *Reactive Nitrogen Species*), poput superoksidnog aniona ($O_2^{\bullet-}$), peroksinitrita ($ONOO^-$) ili hidroksilnog radikala (OH^{\bullet}). $O_2^{\bullet-}$ je produkt staničnog disanja koji iz mitohondrija difundira u stanicu i potom vrlo brzo reagira s NO tvoreći $ONOO^-$, koji se dalje raspada na OH^{\bullet} i radikal dušičnog dioksida ($^{\bullet}NO_2$).¹ $ONOO^-$ također može reagirati s CO_2 , pri čemu nastaje radikal karbonatnog aniona ($CO_3^{\bullet-}$).²

Djelotvornu obranu stanice od $O_2^{\bullet-}$ čine enzimi iz klase superoksid-dismutaza (SOD) koji kataliziraju reakciju $2O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$, a nastali H_2O_2 se potom enzimatski reducira u vodu (glutation-peroksidaza). Manjak SOD dovodi se u vezu s brojnim patološkim stanjima (dijabetes, pulmonalne, kardiovaskularne i degenerativne bolesti, te karcinogeneza).^{1, 3-4}

Potruga za terapijskim sredstvima koja bi mogla neutralizirati $O_2^{\bullet-}$ i time onemogućiti nastanak ostalih ROS i RNS dovela je do razvoja makrocikličkih kompleksa prijelaznih kovina kao obećavajućih redoks-aktivnih terapeutika. Zahvaljujući iznimnim elektronskim svojstvima, osobito djelotvornima pokazali su se spojevi iz klase manganoporfirina (MnP) koji mogu dovesti do povećane razgradnje reaktivnih vrsta stvarajući redoks cikluse sa staničnim reducensima poput glutaciona, tetrahidrobiopterina ili askorbinske kiseline. Manganoporfirini su vrlo obećavajući terapeutici jer mangan (za razliku od željeza i bakra) ne sudjeluje u Fentonovoj reakciji kojom iz H_2O_2 nastaje OH^{\bullet} .¹ Manganoporfirini su također vrlo stabilni kompleksi, a supstitucijom porfirinskog prstena moguće je ciljano modificirati njihov redoks-potencijal, naboj i lipofilnost, koji bitno utiču na njihovu SOD-mimetsku djelotvornost.

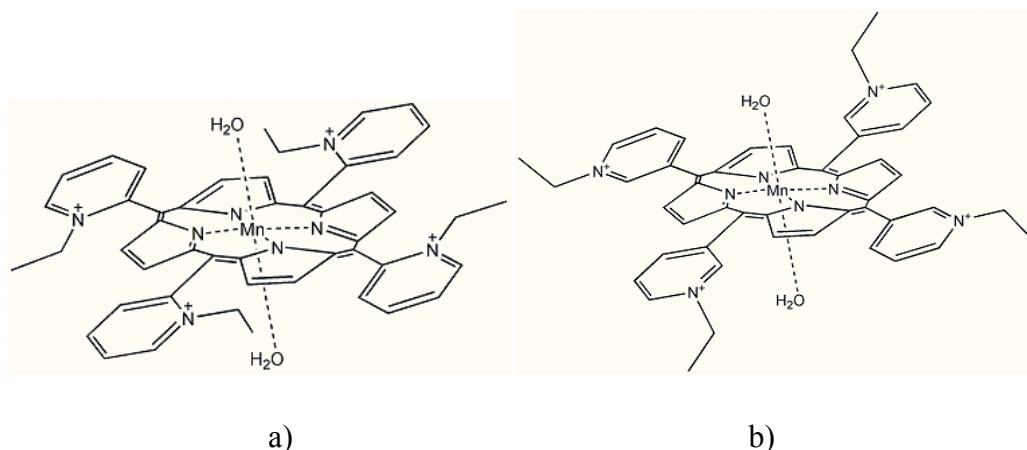
Kationski *meso(ortho-tetraetilpiridil)* manganoporfirin (MnTE-2-PyP) jedan je od najsnažnijih mimetika SOD i trenutno se nalazi u pretkliničkoj fazi razvoja.⁵

U neutralnom vodenom mediju, spoj koji može dismutirati slobodni radikal $O_2^{\bullet-}$ mora imati formalni redukcijski potencijal u rasponu između jednoelektronske redukcije O_2 ($O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$, $E^{0'} = -160$ mV prema normalnoj vodikovoj plinskoj elektrodi - NHE) i jednoelektronske redukcije $O_2^{\bullet-}$ ($O_2^{\bullet-} + 2H^+ + e^- \rightarrow H_2O_2$, $E^{0'} = +890$ mV prema NHE).⁶ Optimalna sposobnost dismutacije postiže se ako je formalni potencijal na polovini između potencijala ovih dviju reakcija, odnosno oko +360 mV, što je upravo slučaj s enzimima SOD,⁷ ali i s nekoliko manganoporfirina (MnP), osobito *meso(ortho-N-alkilpiridil)* manganoporfirinima. Utvrđena je povezanost redukcijskog potencijala središnjeg kovinskog iona i katalitičke konstante brzine dismutacije $O_2^{\bullet-}$, k_{cat} , što je rezultiralo sintezom najsnažnijih funkcionalnih mimetika SOD.^{5, 8-9} Pojačana djelotvornost manganoporfirinskih mimetika SOD postignuta je supstitucijom porfirinskog prstena, čime dolazi do promjene redukcijskog potencijala kovinskog iona. Alkiliranjem piridilskih prstena *meso(ortho-tetrapiridil)* manganoporfirina postignut je redukcijski potencijal vrlo blizak optimalnom.

Jedan od manganoporfirina koji pokazuje visoku djelotvornost *in vivo* i *in vitro* je *meso(ortho-tetraetilpiridil)* manganoporfirin (MnTE-2-PyP, slika 1.1 a), čija vrijednost formalnog redukcijskog potencijala iznosi +228 mV prema NHE.¹⁰ Riječ je o vrlo stabilnom kompleksu u kojem je ion mangana u vodenim otopinama stabiliziran u oksidacijskom stanju +3. Smještanje pozitivnih naboja u blizinu središnjeg kovinskog iona elektrostatički i termodinamički olakšava reakciju s negativno nabijenim slobodnim radikalima, istovremeno smanjujući neželjenu interakciju s nukleinskim kiselinama.¹¹

Pored prikladnog formalnog redukcijskog potencijala, za uspješnost djelovanja manganoporfirina *in vivo* ključna je njihova lipofilnost. Povećana lipofilnost rezultira lakšim prolaskom kroz stanične membrane, uključujući krvno-moždanu barijeru, čime se povećava bioraspoloživost. Lipofilnost manganoporfirina može se povećati pomicanjem alkilnih supstituenata iz *orto* u *meta* položaje, te su nedavno sintetizirani *meso(meta-tetraalkilpiridil)* manganoporfirini, uključujući *meso(meta-tetraetilpiridil)* manganoporfirin (MnTE-3-PyP, slika 1.1 b).¹² Novi *meta* izomeri imaju nešto niži antioksidativni učinak uslijed negativnijih

redukcijskih potencijala ($E^0(\text{MnTE-3-PyP}) = +54 \text{ mV}$ prema NHE)¹³, ali se odlikuju povećanom lipofilnošću i rotacijskom fleksibilnošću zbog kojih dolazi do olakšanog unosa u stanice.



Slika 1.1. a) *meso*(*ortho*-tetraetilpiridil) manganoporfirin \equiv MnTE-2-PyP. b) *meso*(*meta*-tetraetilpiridil) manganoporfirin \equiv MnTE-3-PyP.

Navedeni manganoporfirini imaju visoku sposobnost uklanjanja $\text{O}_2^{\bullet -}$ i ONOO^- iz stanica. Reakcija $\text{O}_2^{\bullet -}$ s manganoporfirinima odvija se u dva koraka: prvi je oksidacija $\text{O}_2^{\bullet -}$ u O_2 ($\text{Mn(III)P} + \text{O}_2^{\bullet -} \rightarrow \text{Mn(II)P} + \text{O}_2$), a drugi reoksidacija Mn(II)P u Mn(III)P ($\text{Mn(II)P} + \text{O}_2^{\bullet -} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{Mn(III)P} + \text{H}_2\text{O}_2$).¹⁰ Redukcija Mn(III)P superoksidom (prvi korak) je kinetički sporiji proces, ali u stanicama dolazi do učinkovite redukcije Mn(III)P staničnim reducensima i prevladava drugi, kinetički brži korak reakcije. S druge strane, uklanjanje ONOO^- odvija se također u dva koraka od kojih je prvi oksidacija Mn(III)P u O=Mn(IV)P ($\text{Mn(III)P} + \text{ONOO}^- \rightarrow \text{O=Mn(IV)P} + \text{NO}_2^{\bullet}$), a drugi redukcija O=Mn(IV)P u Mn(III)P staničnim reducensom R ($\text{O=Mn(IV)P} + \text{R} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{Mn(III)P} + \text{R}^{\bullet} + \text{H}_2\text{O}$).¹⁴ S obzirom na raspoloživost staničnih reducensa, vjerojatna je i dvoelektronska redukcija ONOO^- u manje toksični NO_2^- . Sposobnost stvaranja redoks ciklusa sa staničnim reducensima razlog je visoke učinkovitosti manganoporfirina u uklanjanju reaktivnih vrsta iz stanica.

Biološka, odnosno medicinska važnost navedenih manganoporfirina upućuje na istraživanje oksidoredukcijskog ponašanja parova Mn(III)P/Mn(II)P i Mn(IV)P/Mn(III)P . Izražen učinak na redukcijski potencijal i lipofilnost koji se postiže strukturnom promjenom porfirina, tj. pomicanjem *N*-etilpiridinskih supstituenata iz *orto* u *meta* položaj, čini ovo istraživanje još zanimljivijim. Dodatni poticaj na istraživanje može se pronaći u posljednjim podacima koji

pokazuju da MnTE-2-PyP ima antiangiogenetsko djelovanje, čime potiskuje rast tumora, a također mu se pripisuje radioprotektivno djelovanje na normalno tkivo i preventivno djelovanje na razvoj antinociceptivne tolerancije na morfin.¹⁵

Cilj prvog dijela ovog rada je istražiti kiselo-bazna svojstva *meso(ortho-* i *meta-*tetraetilpiridil) manganoporfirina. U vodenim otopinama manganoporfirini koordiniraju do dvije aksijalno smještene molekule vode čija deprotonacija može imati velik utjecaj na redukcijski potencijal manganoporfirina i time na njihovu citoprotektivnu djelotvornost. Supstitucija porfirinskog prstena, tj. smještanje pozitivnog naboja na različitim udaljenostima od središnjeg manganovog iona, morala bi utjecati na kiselost koordiniranih molekula vode promjenom elektronske gustoće na manganovom ionu, a time i na polarizacijsko djelovanje tog iona na O-H vezu u koordiniranim molekulama vode.

S obzirom da je vrijednost redukcijskog potencijala ključna za njihovo biološko djelovanje, cilj drugog dijela ovog rada je istražiti elektrokemijska svojstva *meso(ortho-* i *meta-*tetraetilpiridil) manganoporfirina u širokom pH rasponu vodenih sredina. Za očekivati je da će se gore opisani učinak supstitucije odražavati i na vrijednosti redukcijskog potencijala istraživanih manganoporfirina.

2. Obrazloženje teme

2.1. Pregled dosadašnjih istraživanja manganoporfirinskih kompleksa

2.1.1. Oksidativni stres i antioksidansi

Istraživanja provedena u posljednjih nekoliko desetljeća pokazuju da reaktivne vrste izazivaju oksidativna oštećenja živih stanica, koja mogu dovesti do apoptoze stanica i nekroze tkiva ili mutacija koje mogu biti začetak tumorskih promjena. Poznato je da ROS i RNS, poput $O_2^{\bullet-}$, $ONOO^-$ ili OH^{\bullet} , sudjeluju u staničnim signalnim putevima i, moduliraju transkripcijsku aktivnost stanice, te reguliraju upalne i imune procese.¹⁶ Molekulne vrste koje se najčešće dovode u vezu s oksidativnim oštećenjem stanica posjeduju barem jedan nespareni elektron i nazivaju se slobodnim radikalima, te su kemijski vrlo reaktivne s niskom specifičnošću za reaktante (pojedine reaktivne vrste, poput $ONOO^-$, posjeduju sve sparene elektrone). Izvori slobodnih radikala mogu biti endogeni i egzogeni. Endogeni izvori slobodnih radikala su difuzija iz mitohondrija tijekom staničnog disanja, difuzija iz aktiviranih polimorfonuklearnih leukocita i stanica endotela, autooksidacija nekih neurotransmitera (npr. noradrenalina i dopamina), a mogu nastati i kao posljedica hipoksije ili ishemije, te dovesti do oštećenja tkiva. Egzogeni izvori slobodnih radikala mogu biti primjerice polutanti iz okoliša, dim cigareta, te metabolizam lijekova.¹⁷ Povišene razine ROS/RNS u stanicama sa suprimiranim staničnim antioksidativnim sustavima rezultiraju stanjem koje se naziva *oksidativni stres*.

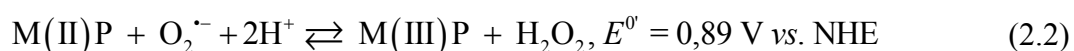
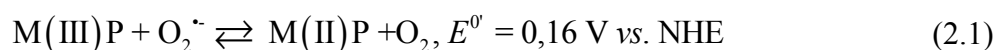
Djelotvornu obranu od superoksida čine enzimatski i ne-enzimatski (glutation, askorbinska kiselina, α -tokoferol i dr.) antioksidansi. Enzimatski antioksidansi reguliraju koncentraciju superoksida dismutacijom superoksida u vodikov peroksid (pomoću enzima superoksidne dismutaze, SOD) koji se zatim pretvara u vodu (pomoću peroksidaza kao što su npr. glutation peroksidaza i peroksiredoksin) ili se disproporcionira u vodu i kisik (enzim katalaza).

Stanje oksidativnog stresa je povezano s brojnim oboljenjima, poput oštećenja središnjeg živčanog sustava (amiotropna lateralna skleroza, Parkinsonova bolest, Alzheimerova bolest, bipolarni poremećaji), kardiovaskularnih i pulmonalnih bolesti, dijabetesa, malignih oboljenja, radijacijske bolesti ili kronične tolerancije na morfin (smanjena reakcija na morfin uslijed oksidativnog oštećenja proteina koji sudjeluju u neurotransmisiji, s posljedičnim nužnim povećanjem doze za postizanje odgovarajućeg učinka).¹⁸

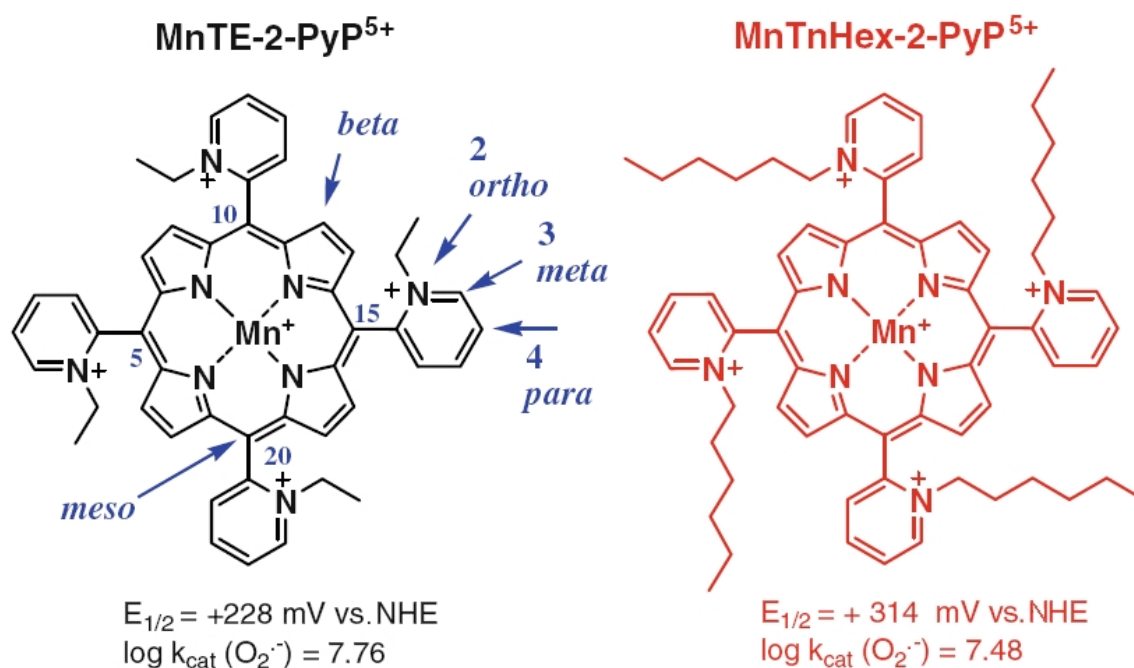
Spomenuta saznanja dovela su do intenziviranja potrage za spojevima koji bi bili u mogućnosti smanjiti razine reaktivnih vrsta i time umanjiti oksidativna oštećenja stanica, ali i utjecati na stanične signalne mehanizme i posljedično utjecati kako na upalne, tako i na imunološke odgovore organizma. S obzirom da je uklanjanje reaktivnih vrsta temeljeno na redoks procesima, dosad je po uzoru na SOD razvijeno nekoliko različitih klasa sintetskih antioksidansa, većinom kovinskih kompleksa čiji je središnji iona odgovoran za katalitičku redukciju/oksidaciju reaktivnih vrsta. Osobito uspješnima se pokazuju spojevi iz klase metaloporfirina i sličnih spojeva, poput korola, teksafina, biliverdina i dr., zahvaljujući iznimnoj stabilnosti kompleksa kovina-ligand koja osigurava integritet aktivnog mjesta kovinskog iona u uvjetima vrlo niske koncentracije u staničnom miljeu.¹⁸

2.1.2. Metaloporfirinski mimetici SOD

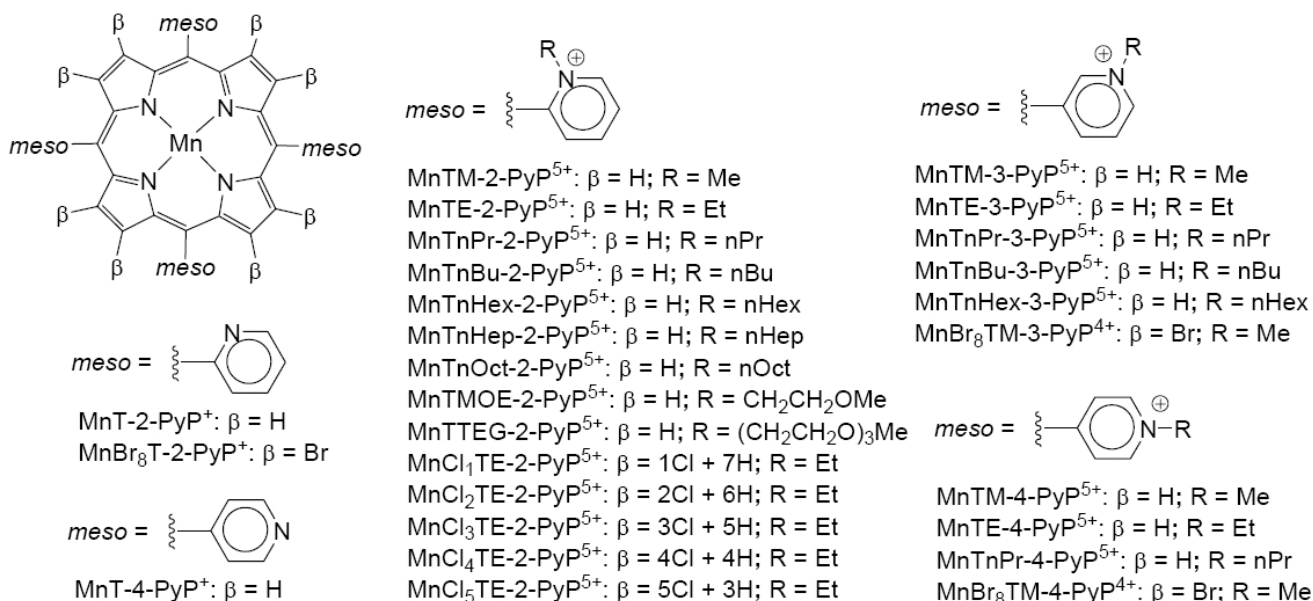
Velik je broj prirodnih metaloporfirinskih kompleksa kao prostetskih skupina bioloških molekula, poput hemoglobina, mioglobina, NO sintaze, citokrom oksidaze, sustava citokroma P450, ciklooksigenaza itd. Molekule poput hema imaju ključnu ulogu u gotovo svim živim organizmima, te su se molekule sintetskih Fe i Mn porfirina nametnule kao logičan izbor u razvoju mimetika SOD. Terapijski potencijal metaloporfirina, osobito Mn(III) i Fe(III) *meso*-tetrakis(*N*-metilpiridinij-4-il)porfirina, MnTM-4-PyP i FeTM-4-PyP, pokazan je u radovima u kojima je opisana reakcija kojom navedeni kompleksi dismutiraju superoksid u vodu i kisik prema reakcijama (2.1) i (2.2), u kojima M označava ion Mn ili Fe.¹⁹⁻²⁰



Porfirinski spojevi važni su kandidati za razvoj antioksidativnih terapeutika zbog iznimne stabilnosti kompleksa, biokompatibilnosti, topljivosti u vodi te vrlo širokim mogućnostima strukturnih modifikacija i izbora kovinskih centara. Uporaba enzima SOD kao terapeutika nije moguća zbog njihove veličine koja nepovoljno utječe na njihovu primjenu; staničnu distribuciju i moguća antigenska svojstva. Osobito prikladni potencijalni mimetici SOD su kationski Mn porfirini (MnP) temeljeni na *orto* izomeru *N*-piridilporfirina, poput MnTE-2-PyP i MnTnHex-2-PyP, čija je aktivnost na razini samog enzima SOD. Oni predstavljaju dosad najuspješnije porfirinske terapeutike u životinjskim modelima oksidativnog stresa (slika 2.1).¹⁸ Pregled sintetiziranih Mn porfirina sa supstituentima na *meso* položaju porfirinskog prstena prikazan je na slici 2.2. Mimetici SOD nisu selektivni samo za $O_2^{\cdot-}$, već posjeduju podjednaku sposobnost redukcije peroksinitrita, radikala karbonatnog aniona, hipoklorita, lipidnih radikala i drugih reaktivnih vrsta.¹⁸ Pregled fizikalno-kemijskih svojstava mimetika SOD s piridinskim supstituentima na *meso* položajima porfirinskog prstena prikazan je u tablici 2.1.^{6-7, 9-10, 12, 21-30}



Slika 2.1. Najsnažniji Mn porfirinski mimetici SOD, MnTE-2-PyP i MnTnHex-2-PyP: $E_{1/2}$ označava standardni redukcijski potencijal središnjeg iona Mn, a k_{cat} konstantu brzine katalitičke dismutacije $O_2^{\cdot-}$



Slika 2.2. Pregled sintetiziranih Mn porfirina sa piridinskim supstituentima na *meso* položajima porfirinskog prstena.

Ključni parametri koji utječu na djelotvornost ovih antioksidativnih spojeva su njihov standardni redukcijski potencijal i lipofilnost. Ustanovljena je povezanost njihove strukture i djelotvornosti (engl. *structure-activity relationship*, *SAR*) istraživanjem ovisnosti konstante brzine katalitičke dismutacije $\text{O}_2^{\bullet-}$, k_{cat} , o redukcijskom potencijalu središnjeg kovinskog iona, $E_{1/2}$ (slika 2.3). Analiza SAR pokazuje da je pozitivnija vrijednost redukcijskog potencijala popraćena većom vrijednošću k_{cat} . Pri vrijednostima $E_{1/2} \ll +200 \text{ mV vs. NHE}$, Mn porfirini su stabilizirani u oksidacijskom stanju Mn(III) i njihova redukcija u Mn(II) prema jednadžbi (2.1) je korak koji određuje brzinu reakcije. Pri redukcijskom potencijalu $E_{1/2} = +228 \text{ mV vs. NHE}$ izmjerenom za MnTE-2-PyP, konstante brzine oksidacije i redukcije MnP superoksidom su podjednake ($2,5 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, odnosno $8,2 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$), kao i u slučaju enzima SOD. Pri vrijednostima $E_{1/2} \approx +500 \text{ mV vs. NHE}$ postignute su najviše vrijednosti k_{cat} , dok pri višim vrijednostima $E_{1/2}$ ponovo dolazi do opadanja k_{cat} uslijed stabiliziranja oksidacijskog stanja Mn(II) u otopini, te reakcija (2.2) postaje korakom koji određuje brzinu reakcije.³¹ Shematski prikaz dismutacijske sposobnosti MnP s obzirom na termodinamičke karakteristike reakcije s $\text{O}_2^{\bullet-}$ prikazan je na slici 2.4.

Tablica 2.1. Pregled fizikalnokemijskih svojstava mimetika SOD s piridinskim supstituentima na *meso* položajima porfirinskog prstena: redukcijski potencijal Mn(III)/Mn(II) ($E_{1/2}$), aktivnost SOD ($\log k_{\text{cat}}(\text{O}_2^{\cdot-})$), aktivnost redukcije ONOO⁻ ($\log k_{\text{red}}(\text{ONOO}^-)$), vrijednost R_f prema MnTE-2-PyP, koeficijent razdiobe između n-oktanola i vode ($\log P_{\text{ow}}$).

MnP	$E_{1/2}$ / mV (vs. NHE) ^a	$\log k_{\text{cat}}(\text{O}_2^{\cdot-})^b$	$\log k_{\text{red}}(\text{ONOO}^-)^c$	R_f^d	$\log P_{\text{ow}}$
kationski MnP					
MnTM-2-PyP ⁵⁺	+220	7,79	7,28	0,5	-7,86
MnTE-2-PyP ⁵⁺	+228	7,76 (cyt c) 7,73 (p.r.) _e	7,53	1,0	-6,89
MnTnPr-2-PyP ⁵⁺	+238	7,38	7,15	1,8	-5,93
MnTnBu-2-PyP ⁵⁺	+254	7,25	7,11	3,2	-5,11
MnTnHex-2-PyP ⁵⁺	+314	7,48	7,11	6,3	-2,76
MnTnHep-2-PyP ⁵⁺	+342	7,65	-	7,7	-2,10
MnTnOct-2-PyP ⁵⁺	+367	7,71	7,15	8,2	-1,24
MnTMOE-2-PyP ⁵⁺	+251	8,04(p.r.)	7,36	1,2	-
MnTTEG-2-PyP ⁵⁺	+250	8,11	-	1,0	-
MnTM-3-PyP ⁵⁺	+52	6,61	6,62	0,8	-6,96
MnTE-3-PyP ⁵⁺	+54	6,65	-	1,7	-5,98
MnTnPr-3-PyP ⁵⁺	+62	6,69	-	3,7	-5,00
MnTnBu-3-PyP ⁵⁺	+64	6,69	-	6,7	-4,03
MnTnHex-3-PyP ⁵⁺	+64	6,64	-	9,2	-2,06
MnTM-4-PyP ⁵⁺	+60	6,58	6,63	0,5	-
MnTE-4-PyP ⁵⁺	+70	6,86	-	-	-
MnCl ₁ TE-2-PyP ⁵⁺	+293	7,75	-	1,1	-
MnCl ₂ TE-2-PyP ⁵⁺	+343	8,11	-	1,2	-
MnCl ₃ TE-2-PyP ⁵⁺	+408	8,41	-	1,3	-
MnCl ₄ TE-2-PyP ⁵⁺	+448	8,6	-	1,3	-
MnBr ₈ TM-3-PyP ⁵⁺	+468	≥8,85	-	-	-
MnBr ₈ TM-4-PyP ⁵⁺	+480	≥8,67	-	-	-
neutralni MnP					
MnT-2-PyP ⁺	-280	4,29	-	10,2	-
MnBr ₈ T-2-PyP ⁺	+219	5,63	-	-	-
MnT-4-PyP ⁺	-200	4,53	-	-	-

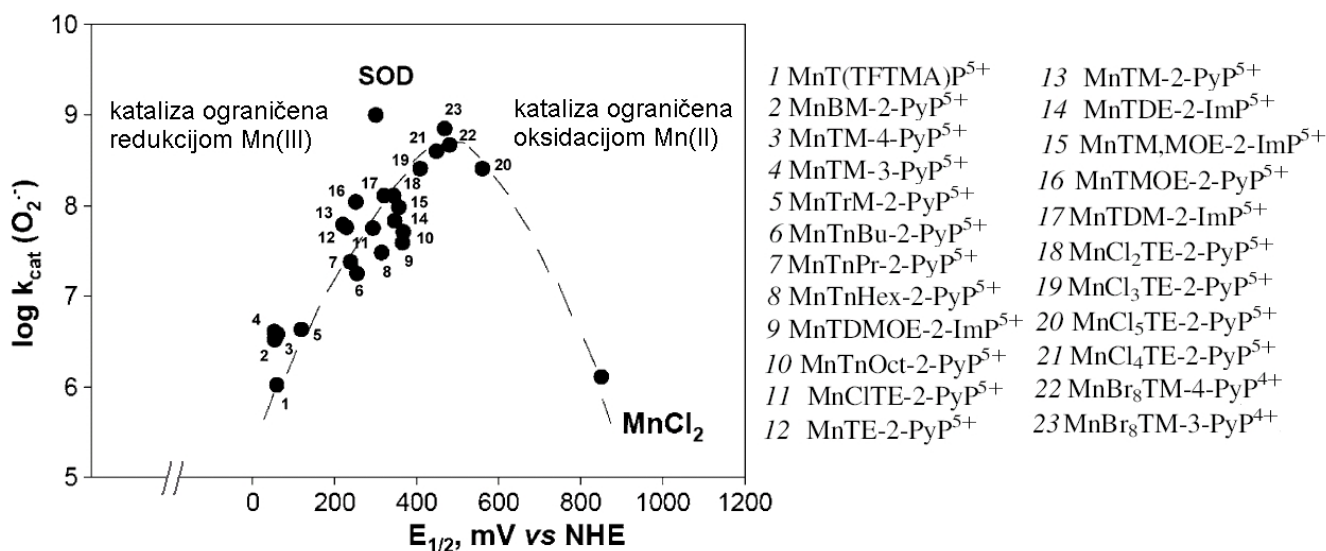
^a $E_{1/2}$ u 0,05 M fosfatnom puferu, pH 7,8, 0,1 M NaCl,

^b cyt c test u 0,05 M fosfatnom puferu, pH 7,8, $t = (25 \pm 1)$ °C,

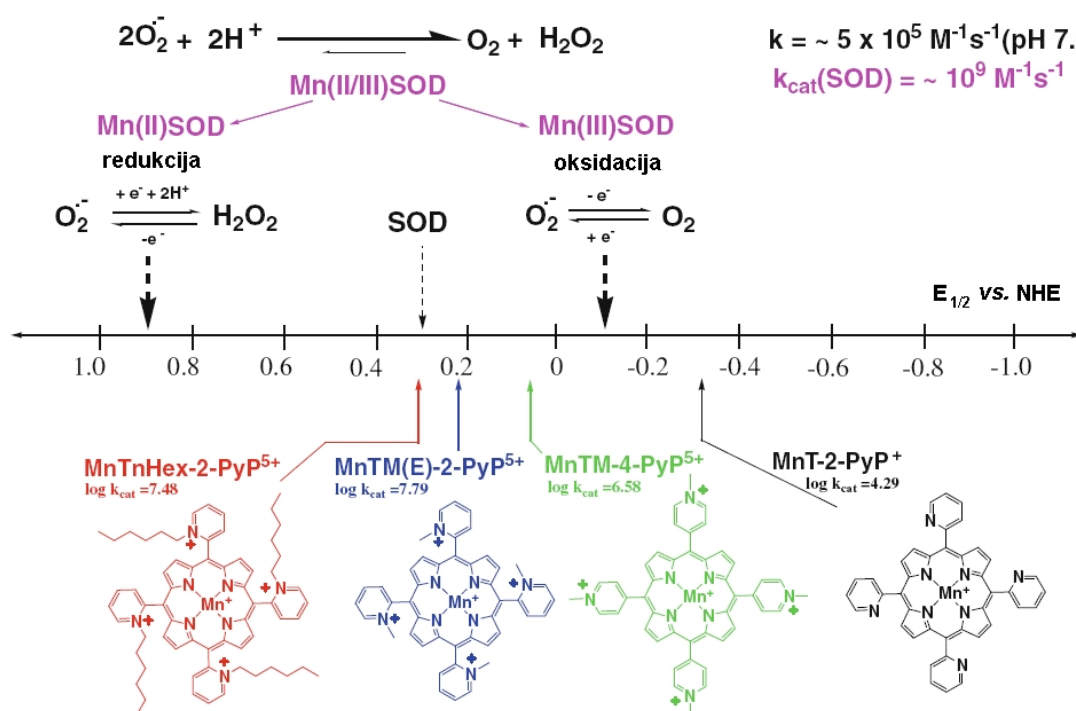
^c mjerenja u 0,05 M fosfatnom puferu, pH 7,4, $t = (37 \pm 0,1)$ °C,

^d mjerenja prema R_f vrijednosti MnTE-2-PyP dobivenoj tankoslojnom kromatografijom u smjesi otapala KNO₃(zas.):H₂O:MeCN = 1:1:8,

^e mjereno pulsnom radiolizom.



Slika 2.3. Analiza SAR između konstante brzine katalitičke dismutacije $\text{O}_2^{\cdot-}$, k_{cat} , i redukcijskog potencijala središnjeg kovinskog iona, $E_{1/2}$.³¹



Slika 2.4. Shematski prikaz utjecaja dismutacijske sposobnosti MnP s obzirom na termodinamičke karakteristike reakcije s $\text{O}_2^{\cdot-}$.³¹

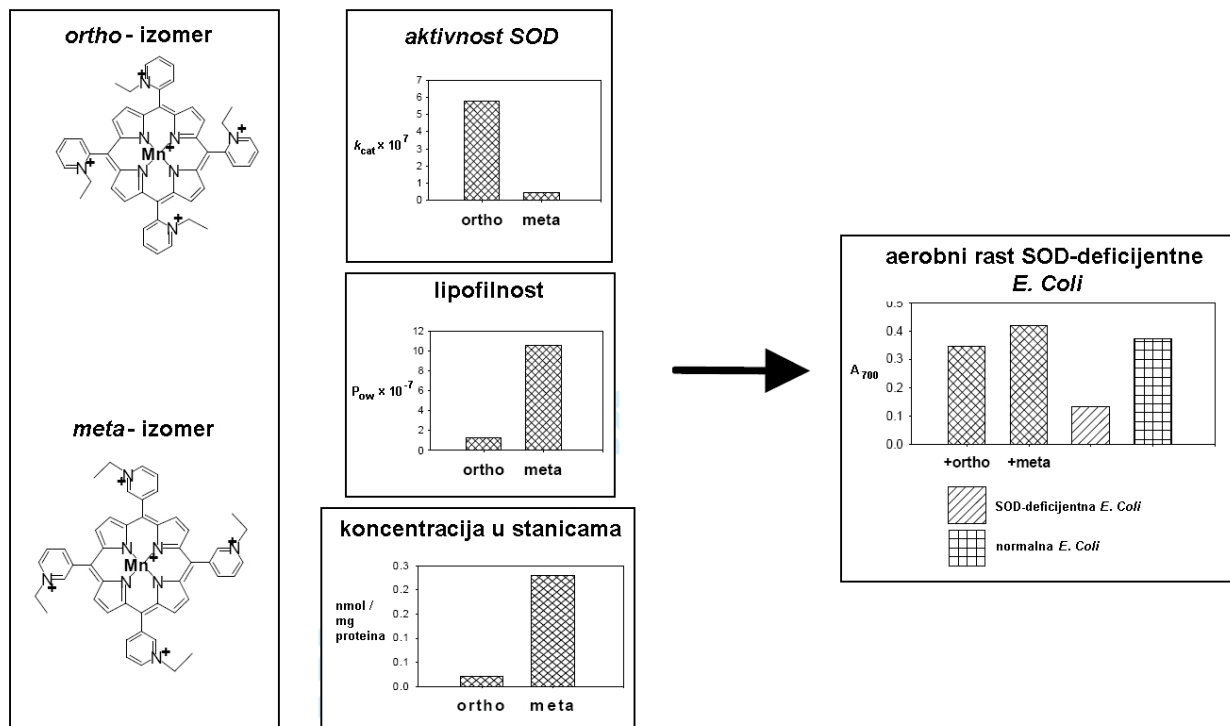
Termodinamičko optimiziranje aktivnosti mimetika SOD podešavanjem vrijednosti $E_{1/2}$ postignuto je dodavanjem supstituenata koji privlače elektrone, čime se smanjuje elektronska gustoća središnjeg kovinskog iona i povećava formalni redukcijski potencijal. Primjerice,

dodatkom metilnih supstituenata na atome dušika piridilskih supstituenata u *para* položaju kompleksa Mn(III) *meso-N*-tetrapiridil porfirina (MnT-4-PyP⁺) koji nije mimetik SOD, dobiven je kompleks MnTM-4-PyP⁵⁺ čiji je formalni redukcijski potencijal čak 260 mV pozitivniji od MnT-4-PyP⁺ ($E_{1/2} = +60$ mV *vs.* NHE) a vrijednost konstante brzine katalitičke dismutacije O₂[•] iznosi $k_{\text{cat}} = 3,8 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Pomicanjem metilpiridilskih supstituenata iz *para* u *orto* položaj dobiven je kompleks MnTM-2-PyP⁵⁺, karakteriziran dodatnim povećanjem formalnog redukcijskog potencijala ($E_{1/2} = +220$ mV *vs.* NHE) i SOD aktivnosti ($k_{\text{cat}} = 3,8 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$).²¹ Nadalje, kompleksi s piridilskim supstituentima u *para* položaju imaju planarnu strukturu koja omogućuje povezivanje s nukleinskim kiselinama čime se smanjuje njihova aktivnost ali i dovodi do toksičnih učinaka, dok je u kompleksima sa supstituentima u *orto* i *meta* položajima interakcija sa nukleinskim kiselinama sterički otežana.³²⁻³³

Važan učinak pomicanja alkilpiridilskih supstituenata bliže kovinskom ionu je elektrostatičko optimiziranje reakcije sa superoksidnim anionom. Mimetici SOD s alkilpiridilskim supstituentima u *orto* položaju posjeduju pozitivne naboje razmještene iznad ili ispod ravnine porfirinskog prstena, čime se značajno olakšava usmjeravanje negativno nabijenog superoksida do središnjeg iona Mn, odnosno do mjesta na kojem se odvija reakcija. Posljedično, kationski kompleksi MnP za nekoliko su redova veličine učinkovitiji mimetici SOD od neutralnih ili anionskih kompleksa sa sličnim vrijednostima $E_{1/2}$ (tablica 2.1).¹⁸

Posljednji, ključan parametar učinkovitosti mimetika SOD *in vivo* je njihova lipofilnost. Vrijednost k_{cat} za kompleks MnTnHex-2-PyP vrlo je slična vrijednosti za MnTE-2-PyP (slike 2.1 i 2.3), ali primijenjen na SOD-deficijentnu *E. Coli*, MnTnHex-2-PyP se pokazao učinkovitijim zbog bolje stanične akumulacije kao posljedice veće lipofilnosti.¹³ Osim produljenjem alkilnih lanaca piridilskih supstituenata, lipofilnost kompleksa MnP moguće je povećati pomicanjem supstituenata iz *orto* u *meta* položaje, te su nedavno sintetizirani novi *meta* izomeri karakterizirani nešto negativnijim vrijednostima $E_{1/2}$ ali ih povećana lipofilnost i rotacijska fleksibilnost piridilskih supstituenata čini učinkovitim mimeticima SOD. Primjerice, kompleks MnTE-3-PyP ($E_{1/2} = +54$ mV *vs.* NHE)²⁵ za čitav je red veličine slabiji antioksidans u usporedbi s MnTE-2-PyP ali je deset puta lipofilniji i lakše prolazi staničnu membranu.

Povećana koncentracija u citosolu kompenzira nepovoljnija termodinamička svojstva dismutacije $O_2^{\bullet-}$ (slika 2.5).



Slika 2.5. Usporedba učinkovitosti MnTE-2-PyP i MnTE-3-PyP *in vivo*.¹⁸

2.2. Cilj i hipoteze istraživanja doktorskog rada

Osnovni razlog ovog istraživanja kiselo-baznih i elektrokemijskih svojstava MnTE-2-PyP i MnTE-3-PyP je biološka, odnosno medicinska važnost ovih kompleksa. Posebno zanimljivim čini se vrlo snažan učinak na lipofilnost i redukcijski potencijal istraživanih spojeva uzrokovan promjenom položaja *N*-etilpiridinijskih supstituenata iz *orto* u *meta*. Redukcijski potencijali diakva-kompleksa Mn(III)P/Mn(II)P i Mn(IV)P/Mn(III)P su poznati,^{14, 22, 25, 34} ali se podaci razlikuju u identitetima relevantnih specija ili su zabilježeni pri različitim eksperimentalnim uvjetima. Moguće je uočiti veliku raznolikost predloženih kompleksnih specija, primjerice (O)₂Mn(IV)P, (OH)(O)Mn(III)P i Mn(II)P[•],³⁵ (H₂O)₂Mn(IV)P i (H₂O)(OH)Mn(IV)P,³⁶⁻³⁷ ili (H₂O)(HO)Mn(IV)P.³⁴ Nijedan od spomenutih radova ne navodi pri kojoj ionskoj jakosti su mjerenja izvršena, a taj parametar može znatno utjecati na vrijednosti konstanti disocijacije protona.³⁸ S druge strane, termodinamički parametri deprotonacije Mn *meso*-tetrakis(*N*-n-butilpiridinij-2-il)porfirina, MnTnBu-2-PyP, ne potvrđuju (O)(H₂O)Mn(IV)P kao potpuno protoniranu speciju Mn(IV)P u vodenim otopinama pri uvjetima 4 < pH < 13.³⁸ U ovom radu prikazano je detaljno istraživanje protolitičke i elektrokemijske specijacije kompleksa Mn(II)-(IV)TE-2-PyP i Mn(II)-(IV)TE-3-PyP u širokom rasponu vrijednosti pH. Obuhvaćeno je i detaljno istraživanje elektrokemijskih parametara elektronskih prijelaza navedenih kompleksa. Istraživanje se čini posebno aktualnim zbog velike vjerojatnosti kliničke uporabe istraživanih kompleksa MnP.

Ostvareni rezultati morali bi potvrditi utjecaj elektronskih svojstava supstituenata porfirinskog prstena na kiselo-bazna svojstva istraživanih manganoporfirina, kao i utjecaj na njihov redukcijski potencijal. Kombiniranje rezultata svih navedenih tehnika moralo bi omogućiti i definiranje specijacije manganoporfirinskih kompleksa u kiselim i bazičnim vodenim sredinama, te definiranje vrsta koje sudjeluju u katalitičkom disproporcioniranju aniona superoksidnog slobodnog radikala. Korištenjem dobivenih specijacija i formalnih redukcijskih potencijala moći će se procijeniti električni potencijal studiranih manganoporfirinskih kompleksa u svim realno dostupnim sastavima vodenih otopina *in vitro*. Rezultati istraživanja trebali bi pridonijeti usmjeravanju budućih istraživanja u sintezi novih manganoporfirina optimalne SOD-mimetske djelotvornosti.

3. Metode

3.1. Kemijska ravnoteža

Kemijske reakcije odvijaju se do stanja ravnoteže, u kojem su koncentracije reaktanata i produkata stalne. Iako se ukupni sastav reakcijske smjese u ravnoteži ne mijenja, pojedine molekule nastavljaju reagirati, no brzine nastajanja i nestajanja sudionika reakcije su izjednačene,³⁹ prema jednadžbi (3.1) u kojoj su A i B reaktanti, C i D produkti reakcije, dok su a,b,c i d odgovarajući stehiometrijski koeficijenti.



Odvijanje kemijske reakcije definiramo reakcijskim dosegom, ξ , u rasponu od 0 do 1. Doseg kemijske reakcije je omjer kvocijenta trenutne množine reakcijskog produkta, n_p , i njegovog stehiometrijskog koeficijenta, ν_p , te kvocijenta množine reaktanta u manjku na početku reakcije, n_r , i njegovog stehiometrijskog koeficijenta, ν_r , prema izrazu (3.2).

$$\xi = \frac{\frac{n_p}{\nu_p}}{\frac{n_r}{\nu_r}} \quad (3.2)$$

Najveća količina mehaničkog rada, $w_{e,max}$, koju je moguće dobiti reverzibilnim izotermnim i izobarnim procesom naziva se Gibbsovom energijom, ΔG , prema izrazu (3.3).⁴⁰

$$w_{e,max} = \Delta G \quad (3.3)$$

Veličina koja povezuje količinu energije dostupnu za izvođenje mehaničkog rada pri konstantnom tlaku i temperaturi i količinu tvari prema izrazu (3.4) naziva se kemijski potencijal, μ .

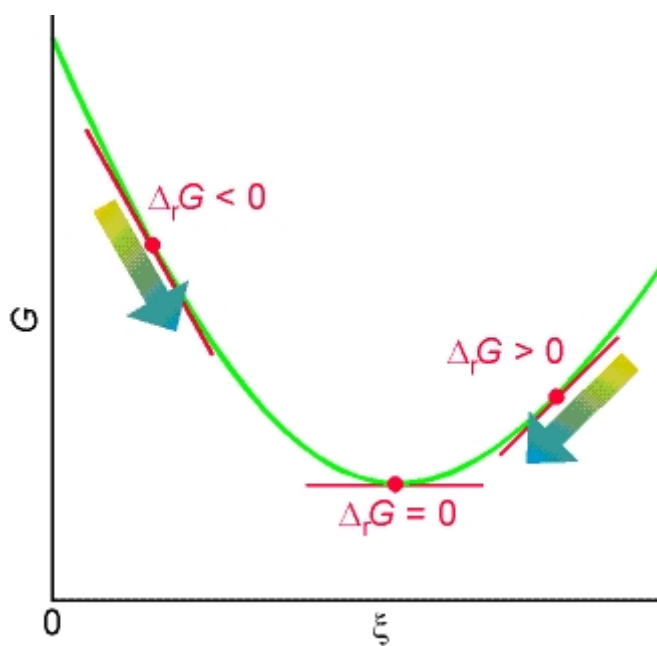
$$\mu = \left(\frac{\partial G}{\partial n} \right)_{T,p} \quad (3.4)$$

Ovisnost Gibbsove energije i doseg kemijske reakcije prikazana je na slici 3.1. Nagib ovisnosti Gibbsove energije o dosegu kemijske reakcije naziva se reakcijskom Gibbsovom energijom, $\Delta_r G$, prema izrazu (3.5).

$$\Delta_r G = \left(\frac{\partial G}{\partial \xi} \right)_{T,p} \quad (3.5)$$

O vrijednosti $\Delta_r G$ ovisi smjer odvijanja kemijske reakcije:

- dok je $\Delta_r G < 0$ reakcija se odvija slijeva udesno (povećava se količina produkata) i naziva se egzergonom (grč. *proizvodi rad*),
- dok je $\Delta_r G > 0$ reakcija se odvija zdesna ulijevo (povećava se količina reaktanata) i naziva se endergonom (grč. *koristi rad*),
- kad je $\Delta_r G = 0$ reakcija je u ravnoteži, odnosno količina tvari koje sudjeluju u kemijskoj reakciji se ne mijenja.



Slika 3.1. Ovisnost Gibbsove energije o dosegu reakcije. ⁴⁰

U otopinama ionskih spojeva privlačne sile između iona rastu s povećanjem njihovog naboja i koncentracije zbog čega se povećava odstupanje otopina elektrolita od idealnih otopina.

Aktivitet jedinice X definira se izrazom (3.6), u kojem je a_x aktivitet jedinice X, $[X]$ je njezina molarna koncentracija, a $\gamma_{c,x}$ je veličina koja se naziva koeficijentom aktiviteta.⁴¹

$$a_x = \gamma_{c,x} \frac{[X]}{\text{mol dm}^{-3}} \quad (3.6)$$

Svojstvo otopine koje povezuje koncentraciju i naboj elektrolita zove se ionska jakost, a definirana je izrazom (3.7), gdje je μ ionska jakost, c molna koncentracija (molarnost) ionske specije n , a z njezin nabojni broj. Koeficijent aktiviteta, a prema tome i aktivitet a_x , mijenja se s ionskom jakošću otopine.

$$\mu = \frac{1}{2} \sum_x c_x z_x^2 \quad (3.7)$$

Pomoću ionske jakosti otopine moguće je procijeniti prosječan koeficijent aktiviteta, γ_{\pm} , u vodenim otopinama pravih elektrolita (tvari koje sadrže ione u čvrstom ili otopljenom stanju) Debye-Hückelovom jednadžbom (3.8), u kojoj je z nabojni broj iona, a A konstanta ovisna o temperaturi ($A = 0,509$ pri 25°C). Jednadžba (3.8) može se primijeniti ako je koncentracija elektrolita manja od 0.01 M.

$$\log \gamma_{\pm} = -|z_+ z_-| A \mu^{1/2} \quad (3.8)$$

Reakcijski kvocijent. Q , jednak je umnošku aktiviteta produkata i reaktanata potenciranih odgovarajućim stehiometrijskim koeficijentima, prema izrazu (3.9). Količina reaktanata smanjuje se napredovanjem polazne reakcije, pa njihovi stehiometrijski koeficijenti imaju negativan predznak.

$$Q = \prod_x a_x^{\nu_x} \quad (3.9)$$

Reakcijski kvocijent povezan je s Gibbsovom energijom prema izrazu (3.10), u kojem je $\Delta_r G^0$ standardna Gibbsova energija kemijske reakcije, $R = 8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ je opća plinska konstanta i T termodinamička temperatura u izražena u kelvinima.

$$\Delta_r G = \Delta_r G^0 + RT \ln Q \quad (3.10)$$

Pri doseg u reakcije u kojem vrijedi $\Delta_r G = 0$ količina tvari koje sudjeluju u kemijskoj reakciji se ne mijenja, odnosno reakcijski kvocijent se više ne mijenja i naziva se konstantom ravnoteže, K , prema izrazu (3.11).

$$K = \left(\prod_{\text{x}} a_{\text{x}}^{\nu_{\text{x}}} \right)_{\text{eq}} \quad (3.11)$$

Prema izrazu (3.10) uz uvjet $\Delta_r G = 0$ standardnu Gibbsovu energiju reakcije, $\Delta_r G^0$, moguće je računati iz konstante ravnoteže prema izrazu (3.12).

$$\Delta_r G^0 = -RT \ln K \quad (3.12)$$

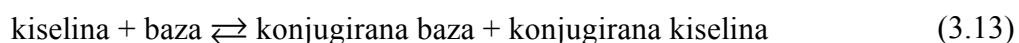
Konstanta ravnoteže je brojčan pokazatelj određene kemijske reakcije pri određenoj temperaturi, koja ne govori o brzini postizanja ravnotežnog stanja ni o putu kojim je to stanje postignuto. Kad jednom nastupi ravnotežno stanje, sustav iz njega ne izlazi spontano, već nekim vanjskim utjecajem. Takve utjecaje na pomak kemijske ravnoteže opisuje Le Châtelierovo načelo:

Kad se reakcija u stanju ravnoteže podvrgne promjeni uvjeta, sustav reagira tako da minimalizira utjecaj promjene.

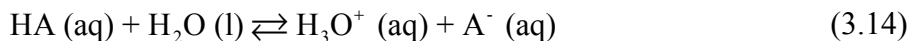
Tako će povišenje temperature mijenjati odnos koncentracija u smjeru koji apsorbira toplinu, porast tlaka povišuje koncentraciju onih sudionika koji zauzimaju manji volumen, a dodatak ili smanjenje količine jednog ili više sudionika sustava pomiče ravnotežu tako da se potroši dodana, odnosno nadomjesti uklonjena tvar.

3.1.1. Ravnoteže u otopinama kiselina i baza

Prema Brønsted-Lowryjevoj teoriji, kiselina je kemijska vrsta koja pokazuje svojstvo davanja protona a baza je vrsta koja pokazuje svojstvo primanja protona.⁴⁰ Pri tome proton označava jezgru vodikova atoma, H^+ , a ne ione koji nastaju u različitim otopinama, pa je definicija neovisna o otapalu. Slijedi da za kemijsku vrstu koja se ponaša kao kiselina donirajući proton, mora postojati baza koja taj proton prima. Brønsted-Lowryjeva teorija može se općenito prikazati jednadžbom (3.13), u kojoj kiselina i baza reagiraju tvoreći konjugirane kiselo-bazne parove.



U vodenim otopinama, kiselina HA reagira s vodom prema izrazu (3.14), pri čemu nastaju hidronijev ion, H_3O^+ , kao konjugirana kiselina molekule vode, i konjugirana baza kiseline HA, A^- .



U razrijeđenim otopinama aktivitet vode iznosi približno 1, pa je ravnotežu iz izraza (3.14) moguće prikazati jednadžbom (3.15), u kojoj se K_a naziva konstantom kiselosti HA.

$$K_a = \frac{a_{\text{H}_3\text{O}^+} a_{\text{A}^-}}{a_{\text{HA}}} \approx \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (3.15)$$

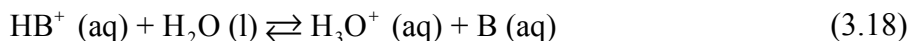
Aproksimacija $a_J \approx [J]$ iz jednadžbe (3.15) vrijedi samo ako su sve vrste J koje sudjeluju u ravnoteži prisutne u niskim koncentracijama. U otopinama 1:1 elektrolita koncentracije 10^{-3} M koeficijenti aktiviteta iznose približno 0,96 pri 25°C , te njihovo zanemarivanje dovodi do pogreške od 10% u procjeni konstanti ravnoteže. Samo u otopinama elektrolita čije su koncentracije manje od 10^{-2} M prosječan koeficijent aktiviteta moguće je računati prema izrazu (3.8).

Za bazu B u vodenim otopinama, reakciju s vodom moguće je prikazati jednadžbom (3.16), pri čemu nastaju hidroksidni ion, OH^- , kao konjugirana baza molekule vode, i konjugirana kiselina baze B, HB^+ . Konstanta ravnoteže K_b za navedenu reakciju naziva se konstantom bazičnosti i definirana je izrazom (3.17), ponovo uz pretpostavku $a_{\text{H}_2\text{O}} \approx 1$ za razrijeđene otopine.



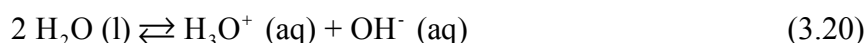
$$K_b = \frac{a_{\text{HB}^+} a_{\text{OH}^-}}{a_{\text{B}}} \approx \frac{[\text{HB}^+][\text{OH}^-]}{[\text{B}]} \quad (3.17)$$

Reakcije prijenosa protona baza B, uobičajeno je prikazivati deprotonacijom njihovih konjugiranih kiselina, prema izrazima (3.18) i (3.19).



$$K_a = \frac{a_{\text{H}_3\text{O}^+} a_{\text{B}}}{a_{\text{HB}^+}} \approx \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{B}]}{[\text{HB}^+]} \quad (3.19)$$

Prema jednadžbama (3.14) i (3.16), molekula vode može se ponašati i kao kiselina i kao baza, odnosno dvije molekule vode mogu reagirati prema jednadžbi (3.20), karakteriziranoj konstantom ravnoteže K_w u izrazu (3.21) koja se naziva ionskim produktom vode i pri 25°C iznosi $K_w = 1,008 \times 10^{-14}$.

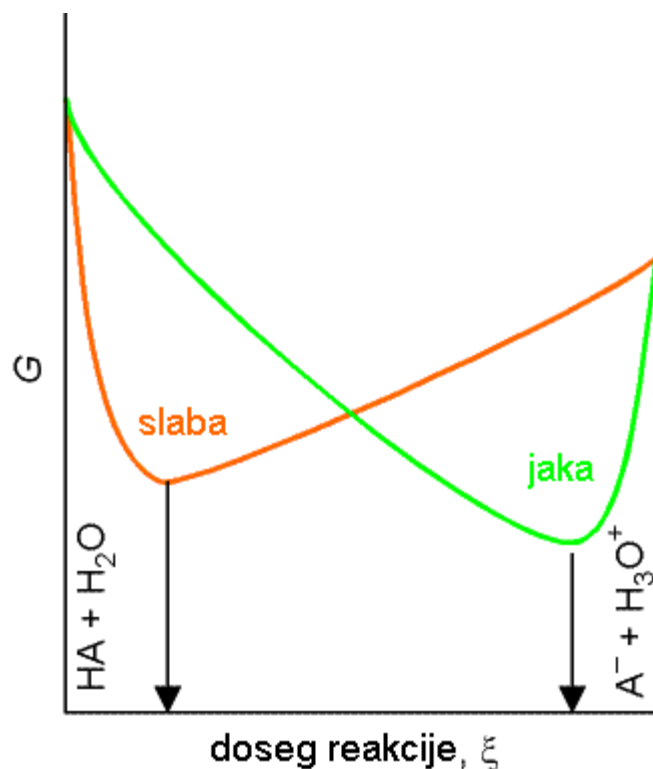


$$K_w = a_{\text{H}_3\text{O}^+} a_{\text{OH}^-} \approx [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-] \quad (3.21)$$

Koncentracije hidronijevih i hidroksidnih iona nastalih disocijacijom vode su jednake i pri 25 °C iznose približno $10^{-7} \text{ M} \approx [\text{H}^+] = [\text{OH}^-]$. pH otopine definiran je kao $\text{pH} = -\log a_{\text{H}_3\text{O}^+}$, te za čistu vodu na 25 °C vrijednost pH je $\sim 7,00$. Na sličan način moguće je definirati vrijednosti pOH ($= -\log a_{\text{OH}^-}$), $\text{p}K_a$ ($= -\log K_a$), i $\text{p}K_b$ ($= -\log K_b$). Korištenjem izraza (3.12) moguće je povezati vrijednost $\text{p}K_a$ i Gibbsovu slobodnu energiju prema izrazu (3.22).

$$\Delta_r G^0 = (RT \ln 10) \times \text{p}K_a \quad (3.22)$$

Jake kiseline karakterizirane su velikom vrijednošću K_a , odnosno malom vrijednošću $\text{p}K_a$, što znači da potpuno disociraju u otopini. Koncentracija H_3O^+ iona nastalih disocijacijom jake kiseline odgovara analitičkoj koncentraciji kiseline, ako svaka molekula HA daje jedan hidronijev ion. Slabe kiseline karakterizirane su malom vrijednošću K_a , odnosno velikom vrijednošću $\text{p}K_a$, što znači da samo djelomično disociraju. Razlika u ponašanju jakih i slabih kiselina prikazana je na slici . Minimum Gibbsove energije za disocijaciju jakih kiselina nalazi se pri doseg reakcije koji odgovara ioniziranim produktima reakcije (3.14), dok se minimum Gibbsove energije za disocijaciju slabih kiselina nalazi pri doseg reakcije koji odgovara neioniziranim reaktantima reakcije (3.14). U ravnoteži je doseg disocijacije slabih kiselina malen, pa koncentracija neionizirane kiseline HA približno odgovara analitičkoj koncentraciji kiseline u otopini.



Slika 3.2. Usporedba minimuma Gibbsove energije reakcija disocijacije jakih i slabih kiselina.⁴⁰

3.1.2. Elektrokemijska ravnoteža

Reakcije pri kojima je oksidacija jedne tvari vezana za istovremenu redukciju druge tvari nazivaju se redoks reakcijama. Općenito se može pisati jednadžba (3.23), gdje su red_1 i oks_1 reducirani i oksidirani oblik tvari 1, a oks_2 i red_2 reducirani i oksidirani oblik tvari 2.



Prilikom redoks reakcije dolazi do stvarnog ili prividnog prijenosa elektrona s tvari 1 na tvar 2. Proces u kojem neka kemijska vrsta otpušta elektron naziva se oksidacijom, dok se redukcijom naziva proces u kojem neka kemijska vrsta prima elektron. Tvar koja daje elektrone i pri tom se oksidira nazivamo redukcijskim sredstvom ili reducensom, a tvar koja prima elektrone i pri tom se reducira nazivamo oksidacijskim sredstvom ili oksidansom. Što lakše reducirani oblik redoks sustava prelazi u oksidirani oblik, tj. što je manji elektronski afinitet reduciranog oblika redoks sustava, to je on jače redukcijsko sredstvo i obrnuto. Općenito, kovine su zbog svoje male elektronegativnosti jaka redukcijska sredstva (elektrondonori), a nekovine su zbog svoje velike elektronegativnosti jaka oksidacijska sredstva (elektronakceptori).⁴¹

Svaka redoks reakcija može se izraziti kao razlika dviju polureakcija redukcije, odnosno reakciju (3.23) možemo pisati kao $(\text{oks}_1 + e^- \rightarrow \text{red}_1) - (\text{oks}_2 + e^- \rightarrow \text{red}_2)$. Elektrokemijski članak sastoji se od dva vodiča, elektroda, u dodiru s elektrolitom, otopinom, tekućinom ili krutinom koja provodi električnu struju pomoću iona. Elektroda s elektrolitom čini elektrodni odjeljak u kojem se odvija jedna od dviju polureakcija redoks reakcije. Elektroda na kojoj se odvija redukcija naziva se katoda, a elektroda na kojoj se odvija oksidacija naziva se anoda.⁴⁰

Poput svih kemijskih reakcija, elektrokemijske reakcije praćene su promjenama energije., Električni rad jednak je umnošku električnog naboja i potencijala elektrokemijskog članka, $w_e = -Q \times E_{el}$, iz čega u elektrokemijskom članku slijedi odnos razlike potencijala između elektroda članka i Gibbsove energije elektrokemijske reakcije prikazan izrazom (3.24), u kojem je z broj izmijenjenih elektrona, a F je Faradayeva konstanta koja odgovara naboju jednog mola elektrona (96485 C mol^{-1}).⁴⁰

$$\Delta_r G = - z F E_{el} \quad (3.24)$$

U galvanskom članku proces teče spontano jer je razlika potencijala članka pozitivna, dok se u elektrolitičkim člancima odvija suprotan proces u kojem električna energija omogućuje odvijanje kemijske reakcije, a sam proces se naziva elektrolizom.

Kombiniranjem jednadžbi (3.10) i (3.24) dobiva se Nernstova jednadžba (3.25), u kojoj je E^0 standardni potencijal elektrokemijskog članka.⁴⁰

$$E = E^0 - \frac{R T}{z F} \ln Q \quad (3.25)$$

Za polureakciju redukcije Nernstova jednadžba može se pisati izrazom (3.26), u kojem je a_O aktivitet oksidirane vrste, a_R je aktivitet reducirane vrste, a m i n njihovi su stehiometrijski koeficijenti.⁴²

$$E = E^0 + \frac{R T}{z F} \ln \frac{a_O^m}{a_R^n} = E^0 + 2,303 \frac{R T}{z F} \log \frac{a_O^m}{a_R^n} \quad (3.26)$$

Nernstova jednadžba ima veliku važnost u elektrokemiji jer omogućava izračunavanje konstante ravnoteže elektrokemijske reakcije, K . Kada je reakcija članka u ravnoteži, odnosno vrijedi $Q = K$, reakcija više ne može proizvesti električni rad jer nema razlike potencijala između elektroda, odnosno $E_{el} = 0 \text{ V}$, te se jednadžba (3.25) može pisati prema izrazu (3.27).

Drugim riječima, izmjereni elektrodni potencijal pokazuje koliko se trenutne koncentracije polučlanka razlikuju od njihovih ravnotežnih vrijednosti.

$$\ln K = \frac{z F E^0}{R T} \quad (3.27)$$

3.1.3. Utjecaj temperature na kemijsku ravnotežu

Prilikom promjene stanja kemijskog sustava pri konstantnoj temperaturi, Gibbsova energija mijenja se prema izrazu (3.28), u kojem je $\Delta_r H$ funkcija stanja koja se naziva entalpija, a $\Delta_r S$ funkcija stanja koja se naziva entropija.⁴⁰

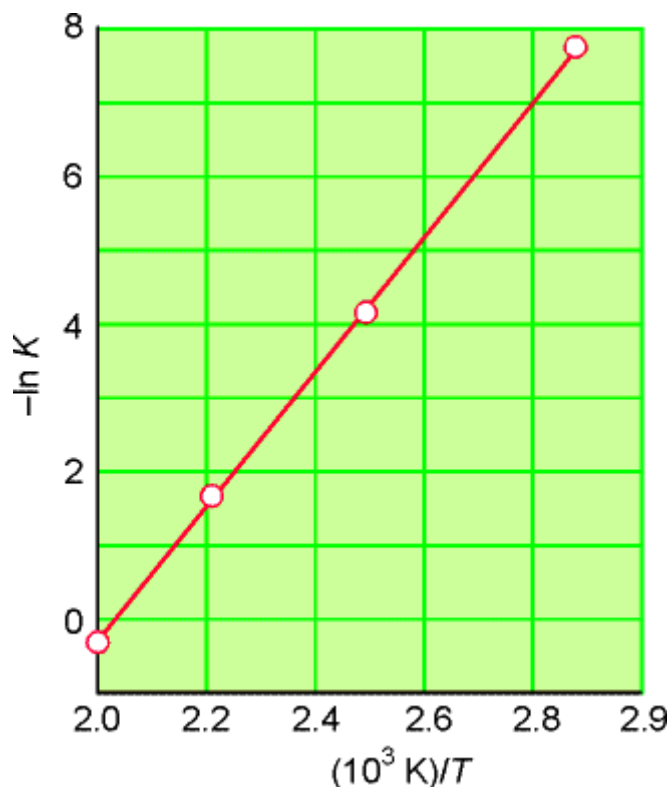
$$\Delta_r G = \Delta_r H - T \Delta_r S \quad (3.28)$$

Le Châtelierovo načelo predviđa da će se povišenjem temperature sustav u ravnoteži mijenjati u smjeru koji apsorbira toplinu, odnosno da će biti favorizirana endotermna reakcija, i obrnuto, da će sniženjem temperature biti favorizirana egzotermna reakcija.

Izraz koji povezuje promjenu konstante ravnoteže s temperaturom naziva se van't Hoffova jednadžba i može se dobiti kombiniranjem izraza (3.12) i (3.28).

$$-\ln K = \frac{\Delta_r H}{R} \frac{1}{T} - \frac{\Delta_r S}{R} \quad (3.29)$$

Iz nagiba pravca i odsjeka na ordinati ovisnosti konstante ravnoteže o $1/T$ moguće je odrediti vrijednosti $\Delta_r H$ odnosno $\Delta_r S$ (slika 3.3).



Slika 3.3. Ovisnost $-\ln K$ o $1/T$ je pravac s koeficijentom smjera $\Delta_r H/R$ i odsječkom na ordinati $\Delta_r S/R$.
40

3.2. Potencijometrija (PM)

Analitičke metode koje se temelje na mjerenjima razlike potencijala nazivaju se potencijometrijskim metodama. Elektrođni potencijal definiran je kao napon (razlika potencijala) nekog elektrokemijskog članka koji sadrži pomno definiranu referentnu (poredbenu) elektrođu, što znači da elektrođni potencijali nisu apsolutne vrijednosti, već relativne, mjerene prema referentnoj elektrođi. Elektrođni potencijal predstavlja mjeru za tendenciju tvari da se oksidira ili reducira. Međunarodno udruženje za čistu i primijenjenu kemiju (engl. *The International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC*) Stockholmskom konvencijom odredilo je pravila koja se odnose na obilježavanje elektrođnih potencijala. Prema ovom dogovoru, izraz „elektrođni potencijal“ namijenjen je isključivo za polureakcije napisane kao redukcije. Predznak elektrođnog potencijala određen je predznakom dotičnog polučlanka spojenog sa standardnom vodikovom elektrodom. Ako se polučlanak spontano ponaša kao katoda, njegov je elektrođni potencijal pozitivan, a ako se polučlanak ponaša kao anoda, njegov je elektrođni potencijal negativan.⁴¹

3.2.1. Standardni elektrodni potencijal

Standardni elektrodni potencijal definira se kao razlika potencijala elektrokemijskog članka u kojem je anoda standardna vodikova elektroda čiji potencijal dogovorno ima vrijednost 0 V pri svim temperaturama, uz jedinične aktivitet svih reaktanata i produktata koji sudjeluju u polureakciji. Dogovorno se odnosi na polureakciju pisanu u obliku redukcije. Standardni elektrodni potencijal mjeri relativnu silu koja pokreće polureakciju iz stanja u kojem svi reaktanti i produkti imaju jedinične aktivitete u stanje u kojemu su reaktanti i produkti u ravnotežnim koncentracijama u odnosu prema standardnoj vodikovoj elektrodi. Pozitivan standardni elektrodni potencijal polureakcije upućuje na to da se ona odvija spontano u odnosu na polureakciju standardne vodikove elektrode, prema izrazu (3.24).⁴²

3.2.2. Formalni potencijal

Za mnoge redoks sustave računanja s elektrodnim potencijalom otežana su prisutnošću drugih ravnoteža koje uključuju jednu ili više vrsta koje sudjeluju u polureakciji, te je predložena upotreba formalnih potencijala, $E^{0'}$. Formalni potencijal sustava je potencijal polučlanka prema standardnoj vodikovoj elektrodi pri uvjetima jediničnih *koncentracija* svih jedinki koje sudjeluju u polureakciji, uz pomno naznačene koncentracije svih drugih jedinki u otopini. Standardni i formalni elektronski potencijal polučlanka povezani su izrazom (3.30), u kojem su $\gamma_{c,O}$ i $\gamma_{c,R}$ koeficijenti aktiviteta oksidirane odnosno reducirane vrste.⁴³

$$E^{0'} = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{\gamma_{c,O}}{\gamma_{c,R}} \quad (3.30)$$

3.2.3. Apsolutni elektrodni potencijal

Elektrodni potencijal moguće je umjesto prema standardnoj vodikovoj elektrodi izraziti prema nekoj drugoj referenci. Referenca koja se koristi za izražavanje apsolutnog potencijala je elektron u vakuumu u neposrednoj blizini izvan elektrolita u koji je uronjena elektroda. Apsolutni potencijal kovinske elektrode, $E^M(\text{abs})$ moguće je izraziti jednačbom (3.31)⁴⁴ u kojoj je Φ^M radna funkcija elektrona u kovini M, odnosno najmanja energija potrebna za uklanjanje elektrona iz Fermijeve razine u kovini preko nenabijene površine, a $\Delta_S^M\psi$ razlika potencijala između kovine i otopine.

$$E^M(\text{abs}) = \Phi^M + \Delta_S^M\psi \quad (3.31)$$

Fermijevom razinom naziva se energija najviše popunjene molekularne orbitale (engl. *highest occupied molecular orbital*, HOMO) u kovini pri $T = 0$ K,⁴⁰ dok je vrijednost $\Delta_S^M\psi$ definirana jednačbom (3.32), u kojoj je ψ^X elektrostatički rad potreban za dovođenje jediničnog naboja u vakuumu iz beskonačne udaljenosti do neposredne blizine kovine, $X = M$, odnosno otopine, $X = S$.

$$\Delta_S^M\psi = \psi^M - \psi^S \quad (3.32)$$

3.2.4. Referentne elektrode

Uobičajeni članak za potenciometrijske analize sastoji se od referentne i indikatorske elektrode i elektrolitnog mosta koji sprečava miješanje ispitivane otopine s otopinom u referentnoj elektrodi. Referentna elektroda je polučlanak s točno poznatim elektrodnom potencijalom, neovisnim o koncentraciji analita ili o koncentracijama drugih vrsta prisutnih u ispitivanoj otopini. Dogovorno se uvijek označuje kao anoda.⁴⁰

3.2.4.1. Standardna vodikova elektroda

Standardna vodikova elektroda je referentna elektroda prema kojoj se iskazuju standardni elektrodni potencijali svih ostalih tvari. Zbog reverzibilnosti i visoke reproducibilnosti izabrana je kao univerzalni standard. Standardna vodikova elektroda se može prikazati kao anoda: $\text{Pt (s)} \mid \text{H}_2 (\text{g}, a_{\text{H}_2} = 1) \mid \text{H}^+ (\text{aq}, a_{\text{H}^+} = 1)$.

Standardna vodikova elektroda se sastoji od kovinskog vodiča u obliku platinske pločice presvučene (platinizirane) fino usitnjenom platinom (crna platina), čime se dobiva velika površina. Ta elektroda je uronjena u vodenu otopinu kiseline jediničnog aktiviteta vodikovih iona. Otopina se održava zasićenom vodikom dovodenjem plinovitog vodika pod stalnim tlakom od 1 bar, odnosno 10^5 Pa na površinu elektrode. Platina ne sudjeluje u elektrokemijskoj reakciji i služi samo kao mjesto prijenosa elektrona. Potencijal vodikove elektrode ovisi o temperaturi, te aktivitetima vodikovih iona i molekularnog vodika u otopini. Dogovorno je potencijal standardne vodikove elektrode, definiran reakcijom (3.33), jednak nuli pri svim temperaturama.⁴¹⁻⁴²



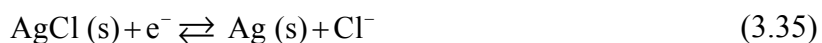
3.2.4.2. Ostale referentne elektrode

Standardna vodikova elektroda (engl. *standard hydrogen electrode*, *SHE*) univerzalna je referentna elektroda prema kojoj se iskazuju potencijali ostalih elektroda. Budući da je ona nepraktična za rad, koriste se sekundarne referentne elektrode čiji su potencijali pomno određeni prema standardnoj vodikovoj elektrodi. Najčešće se koriste zasićena kalomelova elektroda (engl. *saturated calomel electrode*, *SCE*) i srebro/srebrov klorid elektroda (Ag/AgCl).^{40, 42}

Kalomelova elektroda prikazuje se kao $\text{Hg} \mid \text{Hg}_2\text{Cl}_2 (\text{zas.}), \text{KCl} (x \text{ M}) \mid$, gdje je x molarna koncentracija kalijevog klorida. Uobičajene su tri koncentracije kalijevog klorida: 0,1 M, 1 M i zasićena otopina ($\approx 4,6 \text{ M}$ pri 25°C). Standardni potencijal zasićene kalomelove elektrode je $E_{\text{SCE}} = 0,244 \text{ V}$ pri temperaturi 25°C , a odnosi se na reakciju (3.34).



Srebro/srebrov klorid elektroda se sastoji od srebrne elektrode uronjene u otopinu zasićenu kalijevim kloridom i srebrovim kloridom, a može se prikazati kao $\text{Ag} \mid \text{AgCl}(\text{zas.}), \text{KCl}(\text{zas.}) \mid$. Standardni potencijal Ag/AgCl elektrode zasićene kalijevim kloridom iznosi $E_{\text{Ag}/\text{AgCl}} = 0,199 \text{ V}$ pri temperaturi 25°C , a odnosi se na reakciju (3.35).



3.2.5. Indikatorske elektrode

Indikatorska elektroda je uronjena u otopinu analita i razvija potencijal, E_{ind} , koji ovisi o aktivitetu analita. Postoje dvije osnovne vrste indikatorskih elektroda, kovinske (metalne) i membranske. Kovinske elektrode djeluju prijelazom elektrona kroz površinu kojom se dodiruju elektroda i otopina, dok membranske elektrode djeluju prijelazom iona s jedne strane membrane na drugu. Osobita vrsta indikatorske elektrode je staklena elektroda koja se koristi za određivanje pH vrijednosti otopina.

3.2.5.1. *Staklena elektroda*

Potencijal vodikove elektrode definirane reakcijom (3.33) proporcionalan je aktivitetu H^+ iona u otopini, te pri 25°C i standardnom tlaku vrijedi izraz (3.36), gdje je $\text{pH} = -\log a_{\text{H}^+}$.⁴⁰

$$E_{\text{H}^+/\text{H}_2} = -59 \text{ mV} \times \text{pH} \quad (3.36)$$

Mjerenjem potencijala vodikove elektrode prema nekoj referentnoj elektrodi moguće je izmjeriti pH vrijednost otopine. U praksi se za mjerenje pH umjesto vodikove elektrode koristi staklena elektroda pri čemu se mjeri potencijal što nastaje na tankoj staklenoj membrani koja odjeljuje dvije otopine različitih aktiviteta (koncentracija) vodikovih iona. Sastoji se od staklene membrane, unutarnje Ag/AgCl referentne elektrode i unutarnje otopine stalnog aktiviteta vodikovih iona (npr. fosfatni pufer). Članak za određivanje pH čine staklena

elektroda, te kalomelova elektroda kao vanjska referentna elektroda. Površina staklene membrane mora biti hidratizirana da bi poslužila kao pH elektroda. Kada se staklena membrana na vrhu staklene elektrode uroni u vodenu otopinu, na njoj površini formira se tanki sloj hidratiziranog stakla debljine oko 0,1 μm , pri čemu dolazi do izmjene iona natrija u kristalnoj rešetki stakla i vodikovog iona iz otopine. Isto se događa na unutarnjoj strani staklene membrane, prema reakciji (3.37).



Vrijednost pH otopine potom je moguće odrediti prema izrazu (3.38), u kojem je E^0 potencijal staklene elektrode pri pH = 0, a α iznosi –59 mV po jedinici pH pri 25 °C. Staklene elektrode valja redovito baždariti, te se parametri E^0 i α određuju eksperimentalno mjerenjem odziva elektrode u otopinama poznatih vrijednosti pH.

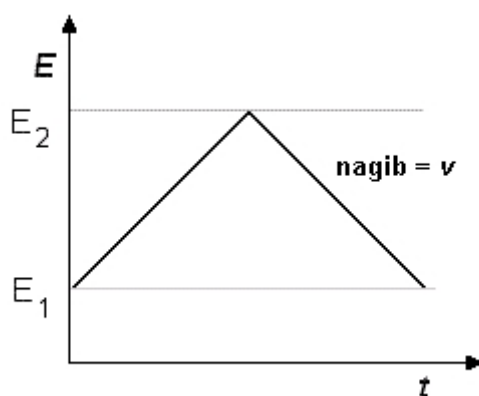
$$\text{pH} = \frac{E - E^0}{\alpha} \quad (3.38)$$

3.3. Ciklička voltametrija (CV)

Ciklička voltametrija je jedna od najčešće korištenih elektrokemijskih metoda zbog njezine relativne jednostavnosti i visokog sadržaja informacija koje pruža. Ponajprije se koristi za dobivanje kvalitativnih informacija o elektrokemijskim reakcijama, osobito o termodinamici redoks procesa, kinetici heterogenih reakcija prijenosa elektrona i procesa adsorpcije. Ova metoda također se redovito primjenjuje u elektroanalitičkim istraživanjima novih sustava. Ciklička voltametrija omogućava brzo dokazivanje prisutnosti elektroaktivnih vrsta, a u vrlo kratkom vremenu može pružiti i kvalitativnu informaciju o stabilnosti oksidacijskog stanja tvari. Pogodna je i za procjenu utjecaja medija na redoks proces. Osim toga, moguće je određivanje kapaciteta elektrode, određivanje formalnog potencijala tvari i difuzijskog koeficijenta oksidirane i reducirane vrste, te istraživanje učinka elektrodnog onečišćenja na izgled cikličkog voltamograma. Osobita je primjenjivost cikličke voltametrije u istraživanju mehanizama elektrodnih reakcija na osnovi detekcije kemijskih reakcija koje prethode ili slijede elektrokemijskoj reakciji. Istraživanja reakcijskih mehanizama su mnogo složenija i

obično zahtijevaju upotrebu posebnih računalnih programa koji simuliraju elektrokemijske mehanizme u smislu jedno- ili više-elektronskih reakcija prijenosa.^{42, 45-47}

Tehnika se zasniva na linearnoj promjeni potencijala narinutog na radnu elektrodu uz istovremeno bilježenje jakosti struje koja je posljedica reakcije prijenosa elektrona. Potencijal elektrode mijenja se od početnog potencijala, E_1 , do potencijala promjene, E_2 , u jednom ili više ciklusa sastavljenih od naprednog i povratnog smjera, pri određenoj brzini promjene potencijala, v . Krivulja ovisnosti potencijala o vremenu koja se koristi u cikličkoj voltametriji trokutastog je oblika (slika 3.4). Produkt reakcije prijenosa elektrona iz napredujućeg dijela ciklusa može poslužiti kao uzorak za povratni dio ciklusa.⁴²



Slika 3.4. Ovisnost primijenjenog potencijala o vremenu u pokusu cikličke voltametrije.

Granice potencijala odabiru se ovisno o promatranim elektrodnim reakcijama. Obično eksperiment počinje na potencijalu pri kojem nema elektrodne reakcije, odnosno izmjerena jakost struje iznosi $I(t = 0) = 0$ A, i zatim se pomiče prema pozitivnijim vrijednostima za proučavanje oksidacije, odnosno prema negativnijim vrijednostima za proučavanje redukcije. Brzina promjene potencijala određuje dužinu trajanja pokusa. Najčešće se koriste brzine promjene potencijala u području od $0,025 - 0,5 \text{ V s}^{-1}$. Gornja se granica može proširiti do $10 - 100 \text{ V s}^{-1}$, dok je korištenjem specijalnih tehnika temeljenih na mikroelektrodama (elektrode polumjera manjeg od $10 \text{ }\mu\text{m}$) moguće postići brzinu od 10^6 V s^{-1} , čime je omogućeno proučavanje međuprodukata s poluživotom reda veličine $1 \text{ }\mu\text{s}$. Podaci sakupljeni mijenjanjem granica potencijala i brzine promjene potencijala ili njezinog smjera, mogu se nadopuniti promjenom drugih eksperimentalnih uvjeta kao što su koncentracija reaktanata ili temperatura.

3.3.1. Osnove elektrodne kinetike

Elektrokemijsku reakciju pretvorbe O u R moguće je prikazati izrazom (3.39), u kojem je n broj izmijenjenih elektrona, a k_f i k_b konstante brzine polazne i povratne reakcije, odnosno redukcije i oksidacije.



Kemijsku ravnotežu elektrodne reakcije (3.39) moguće je prikazati odgovarajućom Nernstovom jednažbom (3.40), u kojoj su C_O^* i C_R^* koncentracije O i R u otopini.

$$E = E^{0'} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{C_O^*}{C_R^*} \quad (3.40)$$

Brzine polazne i povratne reakcije u jednažbi (3.39), v_f i v_b moguće je prikazati izrazima (3.41) i (3.42), u kojima su koncentracije tvari O i R na udaljenosti x od elektrode u vremenu t prikazane kao $C_O(x, t)$, odnosno $C_R(x, t)$, dok su i_c i i_a vrijednosti katodne i anodne struje, te A površina elektrode.⁴⁵

$$v_f = k_f C_O(0, t) = \frac{i_c}{nFA} \quad (3.41)$$

$$v_b = k_b C_R(0, t) = \frac{i_a}{nFA} \quad (3.42)$$

Ukupna mjerena brzina reakcije v_{tot} razlika je brzina v_f i v_b , a ukupna struja opažena na elektrodi, i , razlika je katodne i anodne struje, prema izrazu (3.43).

$$i = i_c - i_a = nFA[k_f C_O(0, t) - k_b C_R(0, t)] \quad (3.43)$$

Konstante brzine polazne i povratne reakcije, k_f i k_b , ovise o potencijalu narinutom na elektrodu, prema izrazima (3.44) i (3.45), u kojima je k^0 standardna konstanta brzine elektrokemijske reakcije, α je katodni koeficijent prijelaza i $f = F / R T$. Pri postignutom ravnotežnom potencijalu u ekvimolarnoj otopini O i R, odnosno pri uvjetima $E = E^{0'}$ i $C_O^* = C_R^*$, vrijedi $k^0 = k_f = k_b$. Vrijednost k^0 je mjera brzine postizanja ravnoteže, te će sustav karakteriziran visokom vrijednošću k^0 brzo postizati ravnotežu, dok će sustav karakteriziran niskom vrijednošću k^0

stanje ravnoteže postizati sporije. Vrijednosti k_f i k_b mogu postići visoke vrijednosti neovisno o k^0 primjenom potencijala E dovoljno različitog od $E^{0'}$.⁴⁵

$$k_f = k^0 e^{-\alpha n f (E - E^{0'})} \quad (3.44)$$

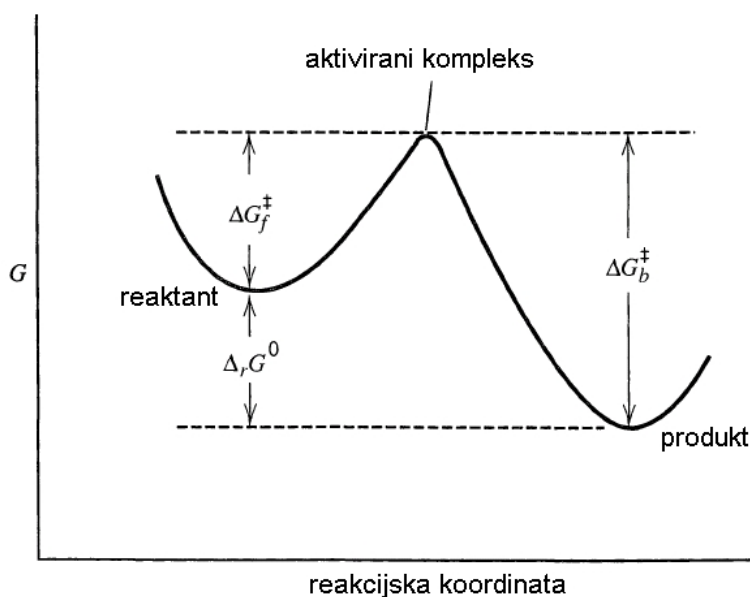
$$k_b = k^0 e^{(1-\alpha) n f (E - E^{0'})} \quad (3.45)$$

Brzine heterogenih reakcija izmjene elektrona odnose se na jedinične površine na kojima se reakcija odvija. S obzirom da su elektrodne površine redovito manjih dimenzija izraženih u cm^2 , brzine reakcija imaju dimenzije $\text{mol sec}^{-1} \text{ cm}^{-2}$, što znači da su konstante brzine izražene u cm sec^{-1} , pod uvjetom da su koncentracije tvari koje sudjeluju u reakciji izražene u mol cm^{-3} . Također valja obratiti pažnju na to da se u izrazima za brzinu reakcije koriste površinske koncentracije tvari koje se mogu razlikovati od koncentracija u ostatku otopine.

Prema teoriji prijelaznog stanja, konstante brzine polazne i povratne reakcije moguće je izraziti jednadžbama (3.46) i (3.47), u kojima su A_f i A_b konstante proporcionalnosti, ΔG_f^\ddagger i ΔG_b^\ddagger standardne slobodne energije aktivacije. Promjena slobodne energije tijekom reakcije prikazana je na slici 3.5.

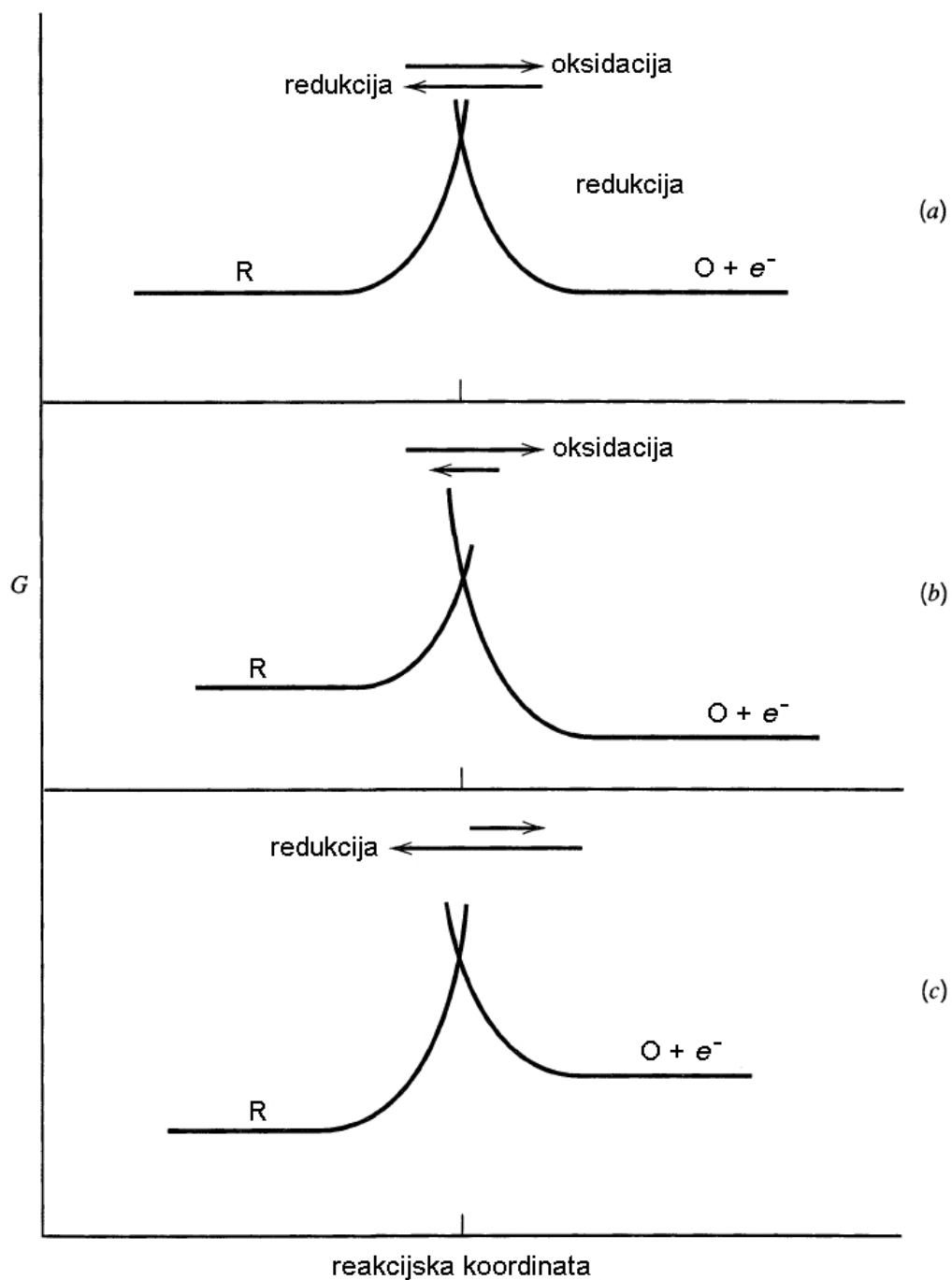
$$k_f = A_f e^{-\frac{\Delta G_f^\ddagger}{RT}} \quad (3.46)$$

$$k_b = A_b e^{-\frac{\Delta G_b^\ddagger}{RT}} \quad (3.47)$$



Slika 3.5. Promjena slobodne energije tijekom kemijske reakcije. $\Delta_r G^0$ je standardna Gibbsova energija reakcije.⁴⁵

Promjena slobodne energije za reakciju (3.39) u ovisnosti o narinutom potencijalu prikazana je na slici 3.6, na kojoj su vrijednosti slobodne energije reaktanata i produkta prikazane odgovarajućim krivuljama koje se sijeku pri vrijednosti slobodne energije aktiviranog kompleksa. Pri ravnotežnom potencijalu, E^0 , slobodne energije reaktanata i produkta su jednake, kao i visine energetske barijere za polaznu i povratnu reakciju, te su brzine polazne i povratne reakcije također jednake. Pri vrijednostima narinutog potencijala pozitivnijima od E^0 dolazi do smanjenja energetske barijere procesa oksidacije, odnosno favoriziranja povratne reakcije. Obrnuto, pri vrijednostima narinutog potencijala negativnijima od E^0 dolazi do smanjenja energetske barijere procesa redukcije, odnosno favoriziranja polazne reakcije.⁴⁵



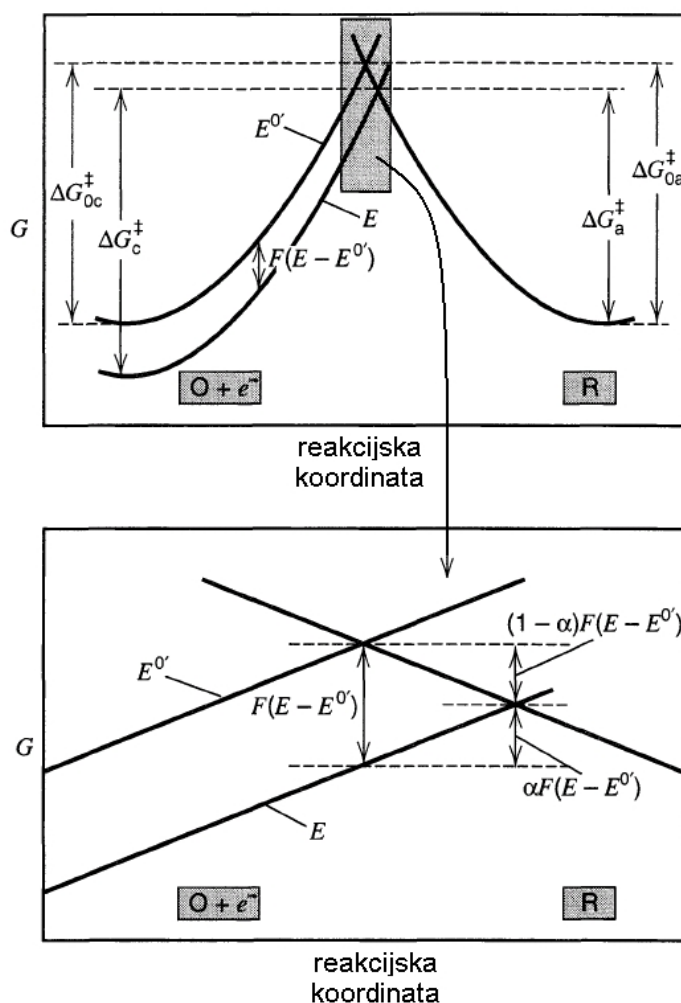
Slika 3.6. Promjena slobodne energije tijekom elektrokemijske reakcije (3.39): (a) $E = E^0$, (b) $E > E^0$, (c) $E < E^0$.⁴⁵

Detaljan prikaz promjena slobodne energije za reakciju (3.39) prikazan je na slici 3.7. Pri vrijednosti potencijala $E = E^0$, aktivacijske energije redukcije i oksidacije prikazane su vrijednostima ΔG_{0c}^\ddagger i ΔG_{0a}^\ddagger . Promjenom potencijala na pozitivniju vrijednost E , dolazi do

promjene aktivacijskih energija u vrijednosti ΔG_c^\ddagger i ΔG_a^\ddagger , prema izrazima (3.48) i (3.49) u kojima koeficijent prijelaza može imati vrijednosti $0 < \alpha < 1$. Kombiniranjem s izrazima (3.46) i (3.47) moguće je dobiti izraze (3.44) i (3.45).⁴⁵

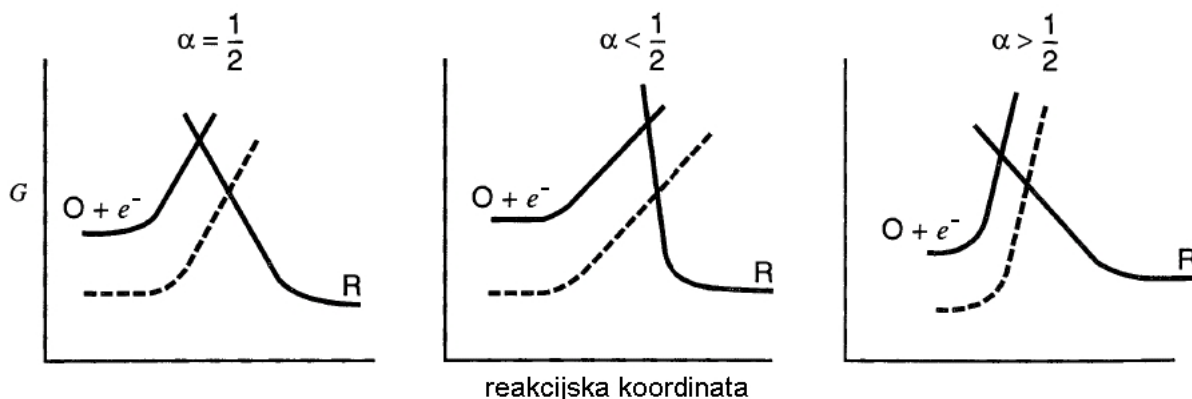
$$\Delta G_a^\ddagger = \Delta G_{0a}^\ddagger - (1 - \alpha)F(E - E^{0'}) \quad (3.48)$$

$$\Delta G_c^\ddagger = \Delta G_{0c}^\ddagger + \alpha F(E - E^{0'}) \quad (3.49)$$



Slika 3.7. Detaljan prikaz utjecaja promjena potencijala na slobodne energije aktivacije redukcije i oksidacije.⁴⁵

Koeficijent prijelaza α mjeri je simetričnosti energetske barijere elektrokemijske reakcije. Vrijednost $\alpha = 0,5$ označava simetrično sjecište krivulja slobodnih energija reaktanata i produkata, dok su nesimetrična sjecišta obilježena vrijednostima $0 < \alpha < 0,5$ i ili $0,5 < \alpha < 1$, kako je prikazano na slici 3.8.



Slika 3.8. Koeficijent prijelaza α kao mjera simetričnosti energetske barijere elektrokemijske reakcije.

Ako je brzina prijenosa elektrona za elektrokemijsku reakciju redukcije velika u usporedbi sa brzinom promjene potencijala, na površini elektrode uspostavlja se ravnoteža na način predviđen Nernstovom jednačbom (3.40). U sustavima u kojima elektrodna kinetika ograničava tok struje, strujni tok se opisuje Butler-Volmerovom jednačbom (3.50), u kojoj je i izmjerena jakost struje, i_0 je struja izmjene, α je katodni koeficijent prijelaza i $f = F / R T$.⁴²

$$i = i_0 \left(e^{-\alpha n f (E - E^0)} - e^{(1-\alpha) n f (E - E^0)} \right) \quad (3.50)$$

U stanju ravnoteže, ukupna struja u ćeliji je jednaka nuli, a brzine polazne i povratne reakcije su jednake. Struja izmjene, i_0 , mjera je faradejske aktivnosti u stanju ravnoteže prema izrazu (3.51).

$$i_0 = n F A k^0 C_O^{*(1-\alpha)} C_R^{*\alpha} \quad (3.51)$$

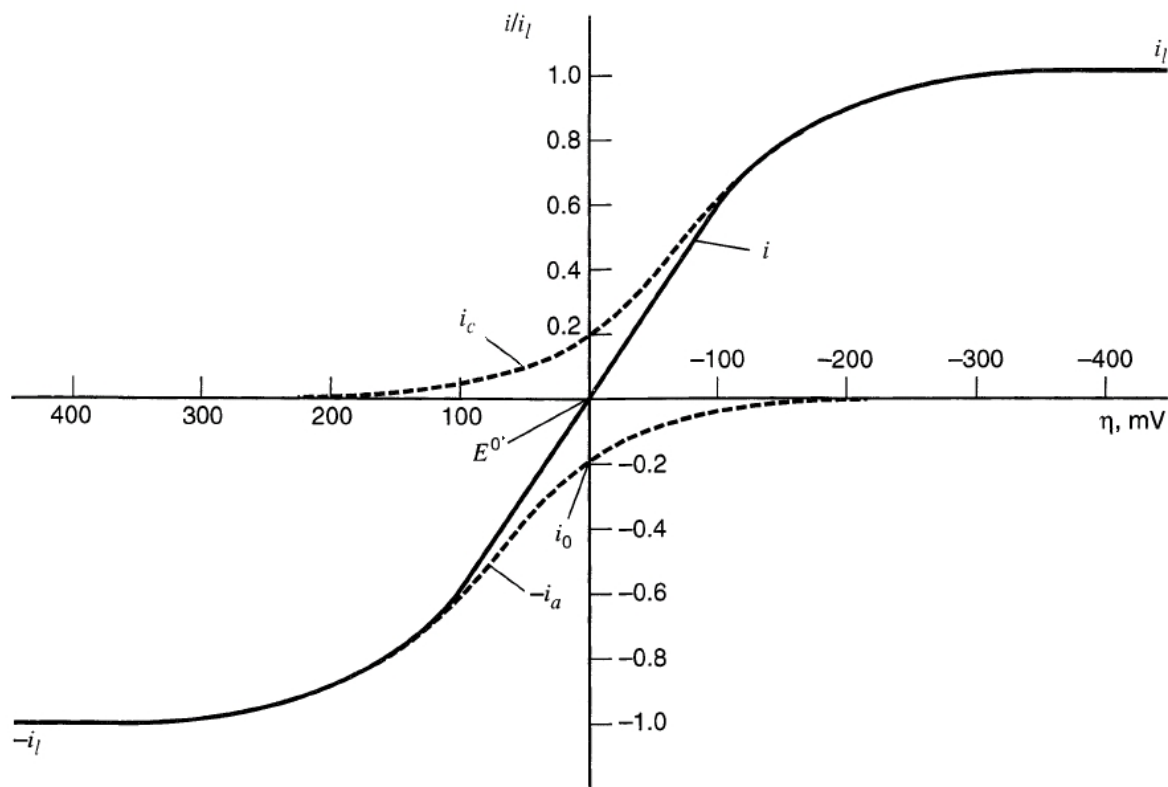
Struja izmjene, kao i vrijednosti katodne i anodne struje uobičajeno se normaliziraju na jediničnu površinu prema izrazu (3.52), čime se dobiva vrijednost gustoće struje, j .

$$j = \frac{i}{A} \quad (3.52)$$

Ovisnost jakosti struje o narinutom potencijalu prikazana je na slici 3.9, na kojoj je vrijednost prenapona označena kao $\eta = E - E^0$, a i_l je limitirajuća struja, odnosno najveća struja koja

može teći elektrokemijskom ćelijom u zadanim uvjetima prijenosa mase tvari iz otopine na površinu elektrode. Limitirajuća struja dana je izrazom (3.53), u kojem je m_O koeficijent prijenosa mase tvari O.

$$i_l = nFAm_O C_O^* \quad (3.53)$$

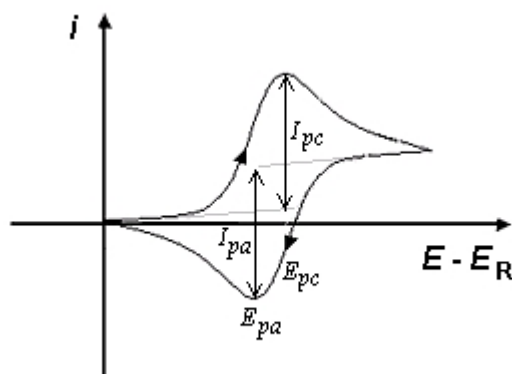


Slika 3.9. Krivulja ovisnosti jakosti struje i o prenaponu η , $\alpha = 0,5$, $n = 1$, $T = 298$ K, $i_{l,c} = -i_{l,a}$, $i_0 / i_l = 0,2$. Isprekidane linije označavaju vrijednosti katodne i anodne struje, i_c i i_a .⁴⁵

3.3.2. Izgled cikličkog voltamograma

Ciklički voltamogram predstavlja grafički prikaz ovisnosti jakosti struje na radnoj elektrodi o primijenjenom potencijalu. Ciklički voltamogram je složena, vremenski ovisna funkcija velikog broja fizikalnih i kemijskih parametara. Istraživana otopina za vrijeme mjerenja miruje, a karakteristike cikličkog voltamograma ovise o brzini prijenosa elektrona, brzini prijenosa mase tvari, kemijskoj reaktivnosti elektroaktivne tvari i brzini promjene potencijala. Najvažniji parametri odziva radne elektrode o primijenjenom potencijalu su vrijednosti potencijala katodnog i anodnog strujnog vrha, E_{pc} i E_{pa} , te jakost struje pri tim potencijalima,

i_{pc} i i_{pa} . Tipičan ciklički voltamogram za reverzibilni jedno-elektronski prijelaz je prikazan na slici 3.10.^{42, 45}

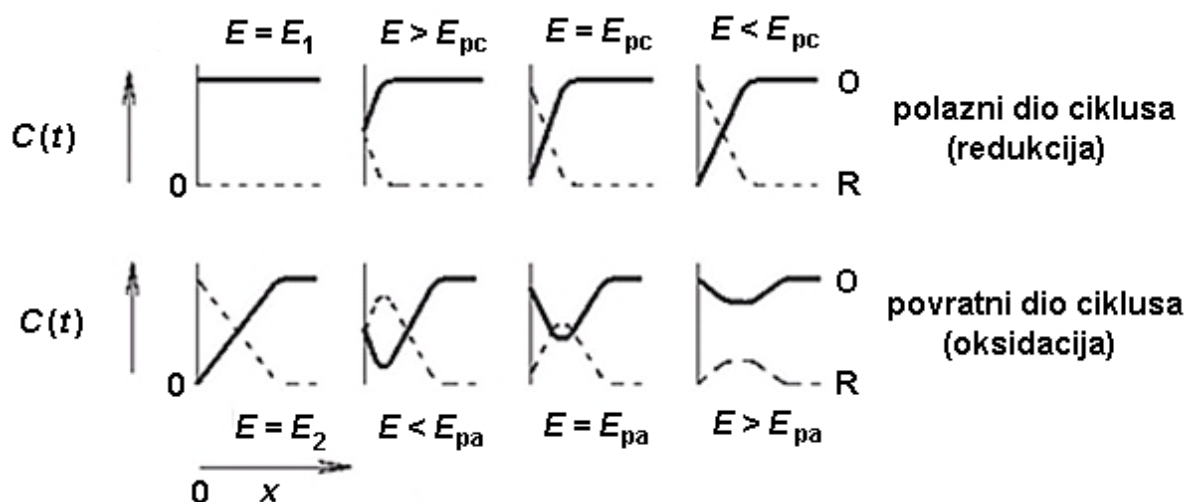


Slika 3.10. Primjer izgleda cikličkog voltamograma reverzibilnog jedno-elektronskog prijelaza, E_R je potencijal referentne elektrode.

Kada se potencijal narinut na radnu elektrodu razlikuje od ravnotežnog potencijala (potencijala pri kojem su brzine redukcije i oksidacije jednake) opaža se tok struje. Potencijal elektrode pozitivniji od ravnotežnog uzrokuje reakciju oksidacije na površini elektrode, dok potencijal negativniji od ravnotežnog uzrokuje redukciju. Uz pretpostavku da na početku eksperimenta istraživana otopina sadrži samo oksidirani oblik redoks para, O, pri potencijalima višima od ravnotežnog potencijala tvari neće biti pretvorbe O u reducirani oblik tvari, R. Kako se potencijal mijenja prema negativnijim (reduktivnijim) vrijednostima, pojavljuje se katodna struja koja raste eksponencijalno s potencijalom, te se potom oblikuje vrh krivulje. Primijenjeni napon utječe na ravnotežu koja se uspostavlja na površini elektrode u smjeru stvaranja produkta R, a jakost struje se povećava kako se napon sve više udaljava od početne vrijednosti.

Vrh krivulje ovisnosti jakost struje o naponu pojavljuje se na voltamogramima otopina koje miruju za vrijeme mjerenja jer u određenom trenutku difuzijski sloj naraste do veličine na kojoj dotok reaktanta na površinu elektrode više nije dovoljno brz da zadovolji Nernstovu jednadžbu. U trenutku kada se sav reaktant na površini elektrode potroši, odnosno koncentracija O na površini elektrode jednaka je nuli, $C_O(0, t) = 0$, za nastavak reakcije neophodno je da se površini elektrode približi reaktant iz ostatka otopine, što je posljedica procesa difuzije čija je brzina kontrolirana veličinom koncentracijskog gradijenta. Kako elektroliza napreduje, reaktant mora difundirati sa sve veće udaljenosti, zbog čega se na nekoj udaljenosti x od elektrode, koncentracijski gradijent smanjuje s vremenom. Usporedno sa

smanjenjem koncentracijskog gradijenta smanjuje se i dotok reaktanta, te jakost struje. Razvoj koncentracijskih profila reaktanta i produkta tijekom eksperimenta prikazan je na slici 3.11.

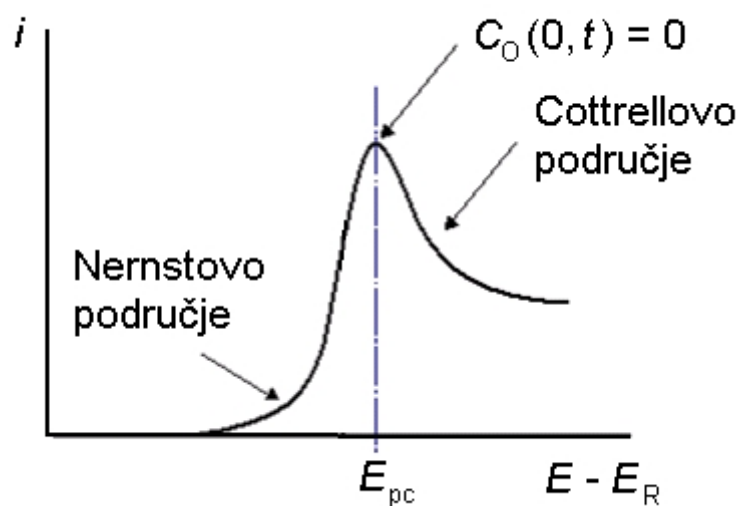


Slika 3.11. Razvoj koncentracijskih profila tijekom eksperimenta. Puna linija označava koncentraciju reaktanta O, a isprekidana koncentraciju produkta R, u zavisnosti o udaljenosti od elektrode, x .

Pad jakosti struje u području nakon strujnog vrha za otopine koje se ne miješaju opisuje se Cottrellovom jednačbom (3.54), u kojoj je A površina elektrode, C_O^* koncentracija tvari O u otopini i D_O difuzijski koeficijent tvari O.⁴²

$$i = n F A C_O^* D_O^{1/2} \pi^{-1/2} t^{-1/2} \quad (3.54)$$

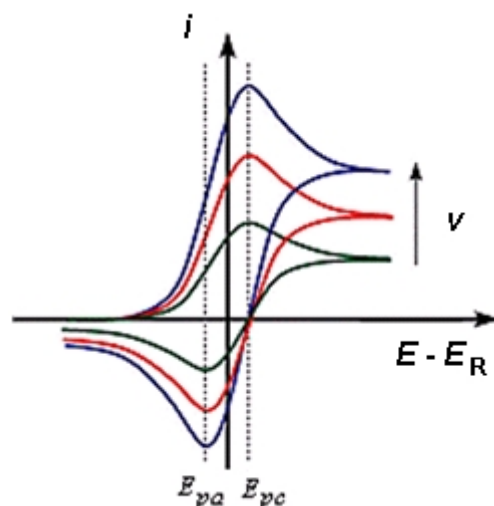
Na voltamogramu za prvu polovinu ciklusa mogu se razlikovati dva područja, Nernstovo i Cottrellovo, u kojem spomenuti čimbenici ispoljavaju svoj utjecaj, a prikazani su na slici Slika 3.12.



Slika 3.12. Različita područja voltamograma u kojima jakost struje određuju elektrodna kinetika i proces prijenosa mase, E_R je potencijal referentne elektrode.

Za vrijeme povratnog dijela ciklusa, jedinice R stvorene u naprednom dijelu ciklusa i akumulirane blizu površine elektrode oksidiraju se natrag u O, što je obilježeno pojavom anodne struje. Izgled strujnog vrha za proces oksidacije za reverzibilnu će reakciju biti istovjetan onom za proces redukcije.

Pri različitim brzinama promjene potencijala, bilježi se i različita jakost struje. Slika 3.13 prikazuje seriju cikličkih voltamograma snimljenih pri različitim brzinama promjene potencijala za otopinu elektrolita koja u početku sadržava samo oksidirani oblik tvari, O. Svaka krivulja ima isti oblik, ali ukupna jakost struje povećava se usporedno s povećanjem brzine promjene potencijala. Vrijeme potrebno za snimanje voltamograma bit će dulje pri nižim vrijednostima brzine promjene potencijala, te će difuzijski sloj narasti mnogo dalje od površine elektrode, u usporedbi s većim brzinama promjene potencijala.⁴⁶



Slika 3.13. Serija cikličkih voltamograma snimljenih pri različitim brzinama promjene potencijala.⁴⁸

3.3.3. Reverzibilni i ireverzibilni elektrokemijski sustavi

Karakteristično obilježje elektrodnih reakcija koje imaju brzu kinetiku prijenosa elektrona je da se smještaj maksimuma jakosti struje pojavljuje pri istom naponu, neovisno o brzini promjene potencijala. Ovakve brze procese nazivamo reverzibilnim reakcijama prijenosa elektrona. Za reverzibilnu reakciju, razlika između anodnog i katodnog potencijala vrha, ΔE_p , iznosi 59 mV/z, neovisno o brzini promjene potencijala. Veća razlika, ili postojanje nesimetričnih redukcijskih i oksidacijskih vrhova, naznaka je ireverzibilnosti elektrokemijske reakcije.⁴⁵

Veličina strujnog vrha za reverzibilni par pri 25 °C, opisana je Randles-Ševčíkovom jednadžbom (3.55) u kojoj je i_p jakost struje vrha (katodnog ili anodnog) u amperima, z je broj izmijenjenih elektrona u reakciji, A je površina elektrode u cm^2 , C_o^* je koncentracija elektroaktivne tvari u mol cm^{-3} , D_o je difuzijski koeficijent u $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$, a v je brzina promjene potencijala u V s^{-1} .⁴⁵

$$i_p = 2,69 \times 10^5 \text{ n}^{3/2} A C_o^* D_o^{1/2} v^{1/2} \quad (3.55)$$

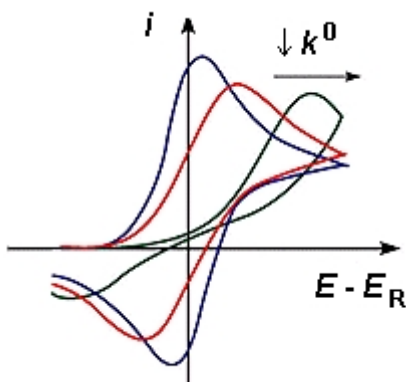
Prema toj jednadžbi, jakost struje je upravo razmjerna koncentraciji analita i raste s drugim korijenom brzine promjene potencijala.

Omjer vrijednosti vršnih strujaza povratni i napredni dio ciklusa , i_{pc}/i_{pa} , jednak je jedinici za reverzibilni proces. Ovaj omjer može biti pod jakim utjecajem pratećih kemijskih reakcija redoks procesa.⁴² Vrhovi struja obično se mjere ekstrapolacijom osnovne struje koja prethodi redukciji ili oksidaciji. Položaj vrhova struja na osi potencijala (vrijednosti E_{pa} i E_{pc}) povezan je s poluvalnim potencijalom redoks para izrazom (3.56).⁴⁹

$$E_{1/2} = \frac{E_{pa} + E_{pc}}{2} \quad (3.56)$$

Udaljenost između vršnih potencijala za reverzibilnu reakciju iznosi $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 59$ mV/z pri 25 °C, i može se koristiti za određivanje broja prenesenih elektrona, te kao kriterij ponašanja sustava prema Nernstovoj jednadžbi. Brzom jednoelektronskom prijelazu odgovara vrijednost $\Delta E_p = 59$ mV.⁴²

U slučajevima sporih procesa prijenosa elektrona (u usporedbi s brzinom promjene potencijala), reakcije se nazivaju ireverzibilnim reakcijama prijenosa elektrona.^{42, 45-46} Kod takvih procesa vrhovi krivulja su smanjeni i široko razdvojeni. Slika 3.14 prikazuje seriju cikličkih voltamograma snimljenih pri istoj brzini promjene potencijala za različite vrijednosti konstante brzine elektrokemijske reakcije, k^0 .



Slika 3.14. Niz cikličkih voltamograma za reakcije različitih konstanta brzine redukcije, k^0 : reverzibilna reakcija(—), kvazireverzibilna reakcija(—) i ireverzibilna reakcija(—).⁴⁸

Za razliku od reverzibilnih reakcija, položaj maksimuma jakosti struje ireverzibilnih reakcija pomiče se zavisno o konstanti brzine redukcije i/ili o brzini promjene potencijala. Pomak vršnih potencijala u zavisnosti o brzini promjene potencijala može se opisati jednadžbom (3.57), gdje je α katodni koeficijent prijelaza, a k^0 je konstanta brzine elektrokemijske reakcije.

Strujni vrh oksidacijskog procesa pomiče se prema pozitivnijim potencijalima, dok se strujni vrh redukcijskog procesa pomiče prema negativnijim vrijednostima. Jakost vršne struje za ireverzibilne sustave je prikazana jednačbom (3.58).⁴⁵

$$E_p = E^{0'} - \frac{RT}{\alpha F} \left[0,78 + \ln \frac{D_o^{1/2}}{k^0} + \ln \left(\frac{\alpha F v}{RT} \right)^{1/2} \right] \quad (3.57)$$

$$i_p = 2,99 \times 10^5 \alpha^{1/2} A C_o^* D_o^{1/2} v^{1/2} \quad (3.58)$$

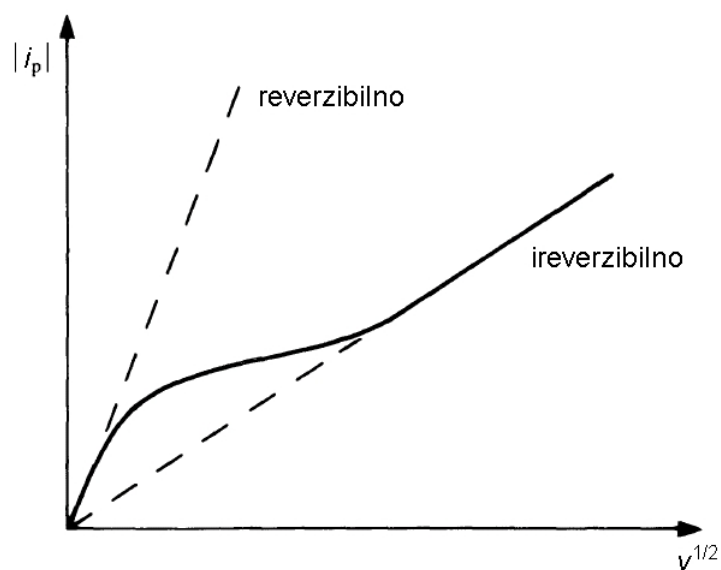
Kvazireverzibilne reakcije karakterizirane su vrijednošću k^0 između reverzibilnih i ireverzibilnih reakcija. Izgled voltamograma i udaljenost strujnih vrhova ovise o v , α i k^0 . Nicholson⁵⁰ je za opisivanje kvazireverzibilnih reakcija predložio korištenje parametra ψ , definiranog izrazom (3.59). Za vrijednosti $0,3 < \alpha < 0,7$ udaljenost strujnih vrhova ΔE_p ovisi samo o ψ , te je korištenjem tabeliranih podataka moguće procijeniti vrijednost k^0 kvazireverzibilnih reakcija snimanjem voltamograma pri različitim brzinama promjene potencijala.

$$\psi = \frac{\left(\frac{D_o}{D_R} \right)^{\alpha/2} k^0}{\left(\frac{\pi D_o n F v}{RT} \right)^{1/2}} \quad (3.59)$$

Ovisno o brzini promjene potencijala, kvazireverzibilne reakcije mogu se ponašati u rasponu od reverzibilnog do ireverzibilnog. Pri nižim vrijednostima brzine promjene potencijala moguće je uočiti reverzibilne voltamograme, dok je pri većim brzinama moguće uočiti ireverzibilne voltamograme. Matsuda i Ayabe⁵¹ su predložili granične vrijednosti k^0 za reverzibilne, kvazireverzibilne i ireverzibilne elektrokemijske reakcije prikazane u tablici 3.1. Prijelaz reverzibilnog sustava u ireverzibilan povećanjem brzine promjene potencijala prikazan je na slici 3.15.

Tablica 3.1. Granične vrijednosti k^0 za reverzibilne, kvazireverzibilne i ireverzibilne elektrokemijske reakcije.⁵¹

vrsta elektrokemijskih reakcija	uvjeti
reverzibilne	$k^0 \geq 0,3 \text{ v}^{1/2} \text{ cm s}^{-1}$
kvazireverzibilne	$0,3 \text{ v}^{1/2} \geq k^0 \geq 2 \times 10^{-5} \text{ v}^{1/2} \text{ cm s}^{-1}$
ireverzibilne	$k^0 \leq 2 \times 10^{-5} \text{ v}^{1/2} \text{ cm s}^{-1}$

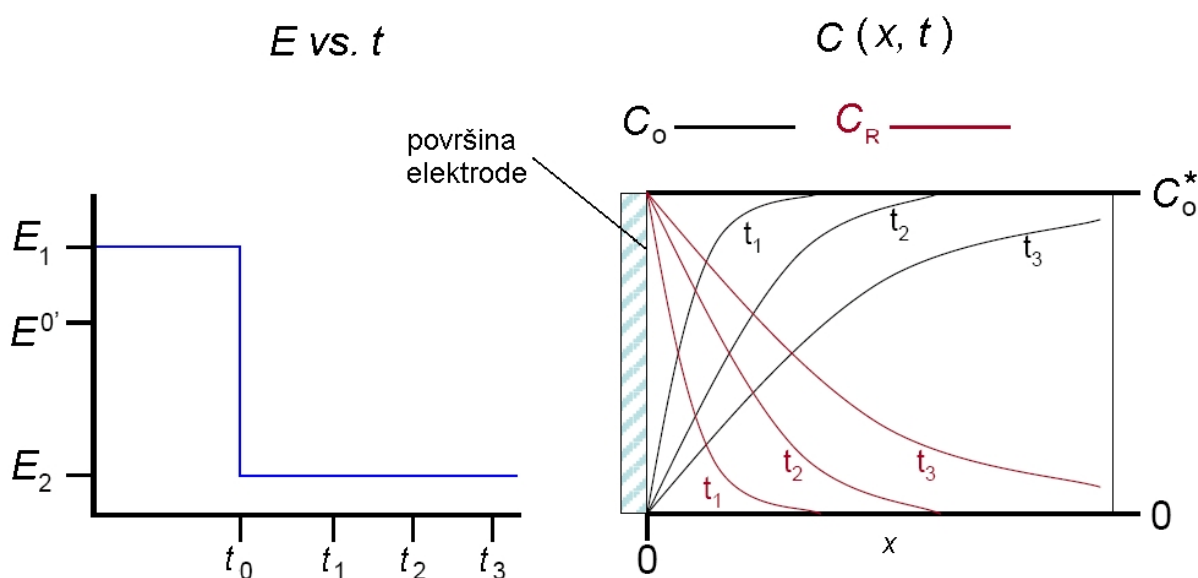


Slika 3.15. Prijelaz reverzibilnog sustava u ireverzibilno područje povećanjem brzine promjene potencijala.⁵²

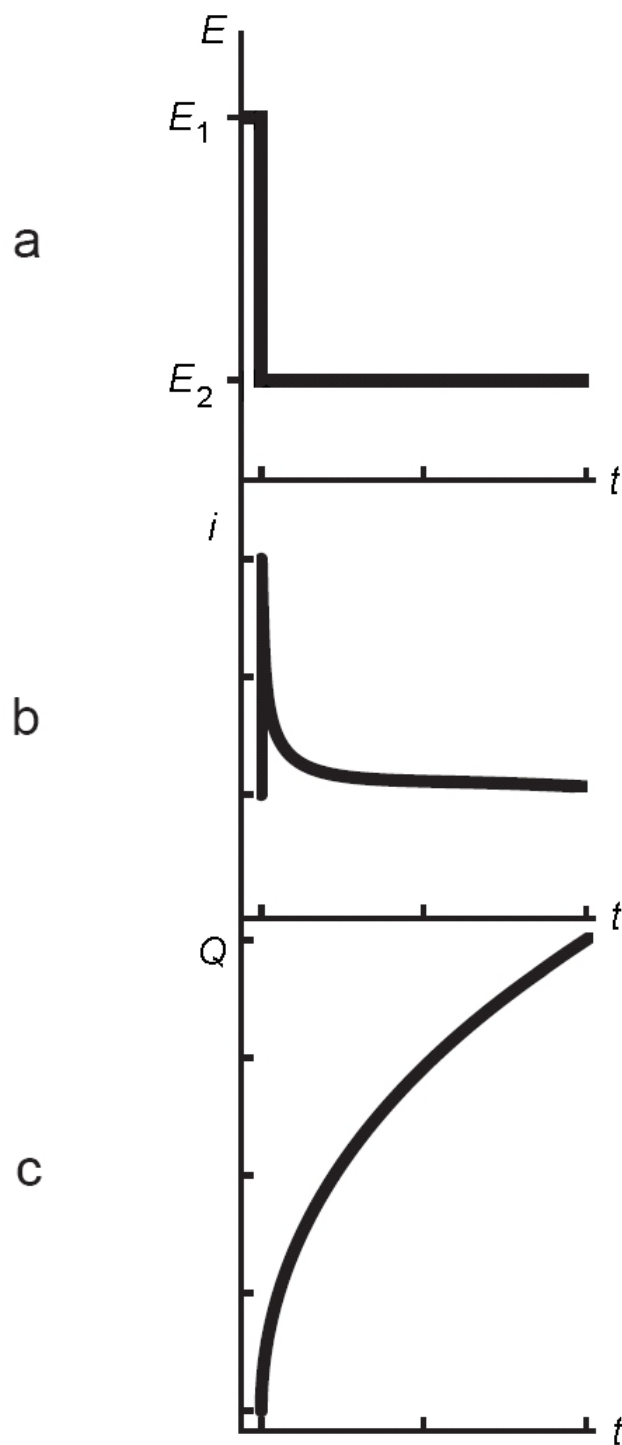
3.4. Kronokulometrija

Kronokulometrija je elektrokemijska metoda koja se zasniva na mjerenju količine naboja proteklog elektrokemijskom ćelijom u nekom vremenu. U kronokulometrijskom pokusu se na radnoj elektrodi uronjenoj u otopinu tvari O koja se ne miješa primjenjuje potencijal E_1 , pri kojem je odvijanje elektrokemijske reakcije (3.39) zanemarivo, odnosno faradejska struja iznosi $i = 0$. U vremenu $t = 0$ potencijal na elektrodi se promijeni u E_2 čija je vrijednost negativnija od formalnog potencijala elektroaktivne tvari O, dovoljno da proizvede limitirajuću struju definiranu izrazom (3.53).⁴⁵ Jakost struje u takvom pokusu mijenja se s vremenom prema Cottrellovoj jednadžbi (3.54). Količinu naboja koja je protekla elektrokemijskom ćelijom moguće je dobiti integriranjem Cottrellove jednadžbe, čime se dobiva Ansonova jednadžba (3.60).^{45, 53} Pokus je shematski prikazan na slici 3.16, na kojoj je također prikazana vremenska ovisnost koncentracija tvari O i R na nekoj udaljenosti od elektrode x . Usporedni prikaz pobudnog signala, te ovisnosti jakosti struje i količine naboja o vremenu prikazan je na slici 3.17.

$$Q_d = 2 n F A C_o^* D_o^{1/2} \pi^{-1/2} t^{1/2} \quad (3.60)$$



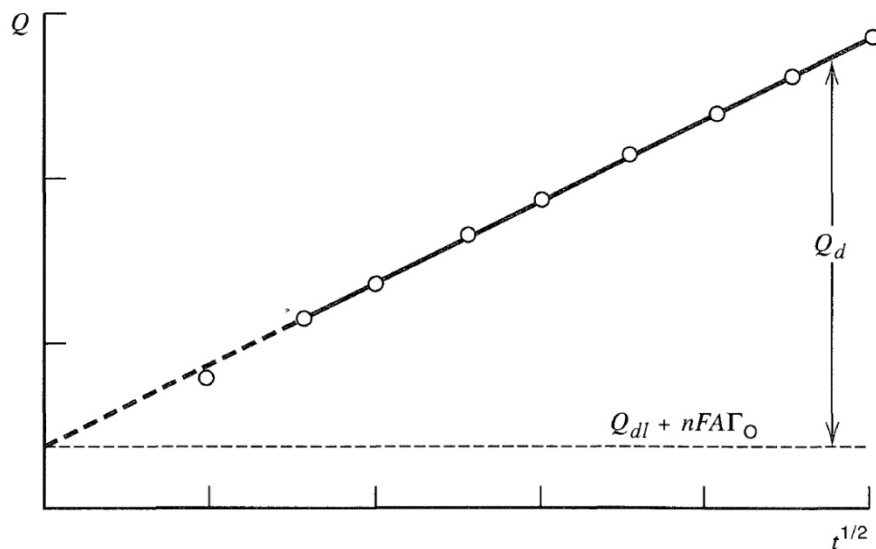
Slika 3.16. Shematski prikaz kronokulometrijskog pokusa i koncentracijskih profila tvari O i R na nekoj udaljenosti od elektrode x u ovisnosti o vremenu t : C_o^* je koncentracija tvari O u otopini.



Slika 3.17. Usporedni prikaz pobudnog signala (a), promjene jakosti struje s vremenom prema Cottrellovoj jednadžbi (b) i promjene količine naboja koja je protekla elektrokemijskom ćelijom prema Ansonovoj jednadžbi (c).⁵³

Prema izrazu (3.60), količina naboja Q_d linearno raste s $t^{1/2}$, te je nagib pravca moguće koristiti za računanje bilo kojeg parametra, n , A , D_O ili C_O^* , ako su poznata ostala tri. Također, izraz

(3.60) upućuje na to da pri $t = 0$ vrijedi $Q_d = 0$, ali eksperimentalno dobiveni pravci Q_d vs. $t^{1/2}$ uobičajeno ne prolaze ishodištem zbog dodatnih komponenti naboja električnog dvosloja, Q_{dl} , i elektoredukcije molekula O adsorbiranih na elektrodi, Q_{ads} (slika 3.18). Količine naboja Q_d i Q_{ads} potroše se vrlo brzo prilikom promjene potencijala ćelije u vremenu $t = 0$, za razliku od difuzijske komponente koja ovisi o prijenosu mase elektroaktivne tvari iz otopine.



Slika 3.18. Ovisnost količine naboja Q o $t^{1/2}$ u kronokulometrijskom pokusu. Odsječak pravca odgovara količini naboja električnog dvosloja, Q_{dl} , i količini naboja utrošenog na elektoredukciju molekula O adsorbiranih na elektrodi, Q_{ads} .⁴⁵

Ukupna količina naboja, Q , koja prolazi elektrokemijskom ćelijom u kulometrijskom pokusu može se prikazati jednadžbom (3.61), u kojoj je vrijednost Q_d definirana jednadžbom (3.60), a Q_{ads} jednadžbom (3.62) u kojoj je Γ_O površinska koncentracija O izražena u mol cm^{-2} .

$$Q = Q_d + Q_{dl} + Q_{ads} \quad (3.61)$$

$$Q_{ads} = nFA\Gamma_O \quad (3.62)$$

Odsječak na pravcu jednak je $Q_{dl} + n F A \Gamma_O$, pa je za procjenu Γ_O , odnosno veličine adsorbiranih molekula O potrebno u dodatnom eksperimentu izmjeriti odziv Q vs. $t^{1/2}$ čistog pozadinskog elektrolita te iz odsjeka pravca odrediti Q_{dl} . Ovako izmjerena vrijednost Q_{dl} ipak je samo aproksimacija jer adsorpcija tvari O utječe na kapacitanciju električnog dvosloja.⁴⁵

3.5. Spektrofotometrija u vidljivom i ultraljubičastom području (UV-Vis)

Elektromagnetno zračenje je vrsta energije koja se može promatrati kao snop pojedinačnih čestica energije nazvanih fotonima. Elektromagnetno zračenje karakteriziraju frekvencija ν , koja je određena izvorom i ne mijenja se bez obzira na sredstvo kroz koje zračenje prolazi, i valna duljina λ , koja je jednaka linearnoj udaljenosti između dva uzastopna maksimuma amplitude vala i mijenja se promjenom medija prema izrazu (3.63) (kao i brzina svjetlosti). U tom izrazu c je brzina svjetlosti, λ valna duljina, a ν frekvencija. Brzina širenja svjetlosti u vakuumu fizikalna je konstanta koja iznosi $c = 299\,792\,458\text{ m s}^{-1}$.

$$c = \lambda \nu \quad (3.63)$$

Energija elektromagnetnog zračenja ovisi o frekvenciji i jednaka je umnošku Planckove konstante ($h = 6,626176 \times 10^{-34}\text{ J s}$) i frekvencije zračenja, odnosno energija zračenja raste porastom frekvencije i opada porastom valne duljine, prema izrazu (3.64).

$$E = h \nu = \frac{h c}{\lambda} \quad (3.64)$$

Svaka čestica ima jedinstven skup i raspored energijskih stanja, pri čemu je najniže među njima osnovno stanje. Ukupna energija molekule E_{uk} , približno se izražava kao zbroj elektronske (E_{el}), vibracijske (E_{vib}) i rotacijske energije (E_{rot}), prema izrazu (3.65).

$$E_{\text{uk}} = E_{\text{el}} + E_{\text{vib}} + E_{\text{rot}} \quad (3.65)$$

U spektralnim procesima zbog apsorpcije elektromagnetnog zračenja dolazi do prijelaza atoma ili molekule u više energijsko stanje. Prema Bohrovom postulatu, razlika energije atoma ili molekule nakon i prije apsorpcije, ΔE , jednaka je energiji apsorbiranog fotona, prema izrazu (3.66), u kojem je E_{ν} energija atoma ili molekule nakon apsorpcije zračenja, a E_n energija atoma ili molekule prije apsorpcije zračenja.

$$\Delta E = E_{\nu} - E_n = h \nu \quad (3.66)$$

Mjerno područje ultraljubičastog spektra obuhvaća valne duljine svjetla od približno 190 do 380 nm, a vidljivog dijela od ca. 380 do 780 nm. U tim područjima valnih duljina mjeri se

količina propuštene monokromatske svjetlosti kroz neko homogeno apsorbirajuće sredstvo. Intenzitet zračenja ulazne zrake slabi zbog apsorpcije i raspršenja dijela zračenja od strane apsorbirajućeg sredstva.⁵⁴ U homogenim optičkim medijima (plinovi, tekućine, prave otopine) raspršenje se uglavnom može zanemariti, te je apsorpcija glavni razlog smanjenja intenziteta zračenja prolaskom kroz medij. Količina monokromatske svjetlosti propuštene kroz neko homogeno apsorbirajuće sredstvo može se mjeriti fotometrima ili spektrofotometrima. Fotometri (kolorimetri) su uređaji kojima se upotrebom optičkih filtera izdvaja široko područje valnih duljina zračenja, dok spektrofotometri posjeduju monokromator s prizmom ili optičkom mrežicom koji izdvaja usko područje valnih duljina zračenja.

Do apsorpcije fotona dolazi samo ako je energija fotona jednaka razlici između osnovnog i nekog od viših energijskih stanja čestice. To znači da će neka tvar apsorbirati samo zračenje određene frekvencije, dok će ostalo zračenje proći nesmanjenog intenziteta. Kemijska vrsta koja apsorbira prelazi potom u više energijsko stanje,⁵⁴ koje je posljedica porasta elektronske, vibracijske i/ili rotacijske energije, prema izrazu (3.65). Apsorpcijom zračenja u ultraljubičastom i vidljivom području spektra dolazi do elektronskih prijelaza i do porasta elektronske energije. Povećanje vibracijske energije molekule posljedica je apsorpcije zračenja u bliskom i srednjem infracrvenom području spektra, dok se pobudom u dalekom infracrvenom i mikrovalnom području povećava rotacijska energija. Prikaz krivulje ovisnosti apsorpcije o valnoj duljini zračenja naziva se apsorpcijski spektar ili krivulja apsorpcije.

Prema Beer-Lambertovom zakonu, intenzitet prolaznog zračenja (intenzitet ulaznog zračenja umanjen za apsorbirano zračenje) razmjeran je intenzitetu ulaznog zračenja, debljini sloja medija kroz koji zračenje prolazi, te koncentraciji apsorbirajuće tvari u mediju. Beer-Lambertov zakon izražen je jednadžbom (3.67), u kojoj je I intenzitet prolaznog zračenja, c koncentracija apsorbirajuće tvari izražena u mol dm^{-3} , l debljina sloja kroz kojeg zračenje prolazi izražena u cm i ε konstanta proporcionalnosti karakteristična za određenu tvar koja se naziva molarni koeficijent apsorpcije i izražena je u $\text{dm}^3 \text{cm}^{-1} \text{mol}^{-1}$.

$$\frac{dI}{I} = -\varepsilon c dl \quad (3.67)$$

Integriranjem izraza (3.67) dobiva se izraz za apsorbanciju (3.68), u kojem je I_0 intenzitet ulaznog zračenja, a A apsorbancija.

$$\log \frac{I_0}{I} = A = \varepsilon c l \quad (3.68)$$

Beer-Lambertov zakon uspješno se primjenjuje za razrijeđene otopine kroz koje se propušta monokromatska svjetlost. Do odstupanja od Beer-Lambertovog zakona dolazi pri višim koncentracijama što se očituje pojavom nelinearne ovisnosti apsorbancije o koncentraciji.

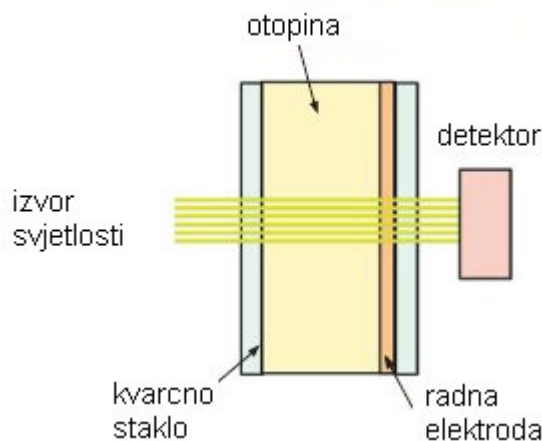
Spektrofotometrija u ultraljubičastom i vidljivom području najčešće se primjenjuje u:

- kvalitativnoj i kvantitativnoj analizi anorganskih i organskih spojeva u svrhu identifikacije i ispitivanja čistoće,
- studijama termodinamike i kemijske kinetike prilikom određivanja konstante brzine reakcije k , te konstante ravnoteže K ,
- određivanjima strukture i svojstava tvari.

Kvalitativna analiza svodi se na identificiranje spojeva uspoređivanjem apsorpcijskih spektara s literaturnim podacima, no za tu svrhu korisnija je infracrvena spektrofotometrija. Kvantitativna spektrofotometrijska analiza temelji se na Beer-Lambertovu zakonu, a izmjereni spektar služi za izbor optimalne valne duljine pri kojoj će se izvoditi mjerenja apsorbancije⁵⁵. Najčešće se u tu svrhu odabire maksimum apsorpcijske krivulje u promatranom spektralnom području. Na taj način minimaliziraju se pogreške analize koje nastaju zbog onečišćenja koja također apsorbiraju zračenje ili zbog ograničene spektralne rezolucije spektrofotometra.

3.6. Spektroelektrokemija (SEC)

Spektroelektrokemija (SEC) kombinira elektrokemijske i spektroskopske metode, omogućujući istovremeno praćenje elektrokemijskih signala i spektroskopskih promjena elektroaktivnih tvari.⁵⁶ Razvoj spektroelektrokemijskih metoda posebno je napredovao razvojem optički transparentnih elektroda, poput ITO-elektroda (engl. *Indium Tin Oxide*) koje se proizvode naporivanjem vodljivog sloja na kvarcno staklo. Najčešća je metoda korištenja OTTLSE ćelije (engl. *optically transparent thin-layer spectroelectrochemical cell*), prikazana na slici 3.19.



Slika 3.19. Shematski prikaz UV-Vis spektroelektrokemijske ćelije.

Prema Nernstovoj jednadžbi (3.25), omjer koncentracija oksidirane i reducirane vrste na površini elektrode određen je potencijalom narinutim na elektrodu. U SEC-ćeliji dolazi do brzog uspostavljanja ravnoteže, pa se može pretpostaviti da je taj omjer jednak i na površini elektrode i u sloju otopine kroz koji prolazi svjetlost, odnosno da vrijedi $([O] / [R])_0 = ([O] / [R])_{ot}$. Potom je iz izraza (3.68) moguće izvesti izraz (3.69), u kojem su A_O i A_R apsorbancije oksidirane i reducirane vrste, a A apsorbancija izmjerena u ćeliji.

$$\frac{[O]}{[R]} = \frac{A - A_R}{A_O - A} \quad (3.69)$$

Korištenjem SEC moguće je odrediti formalni potencijal i broj izmijenjenih elektrona u redoks procesu, termodinamičke parametre i promatrati elektrodnu kinetiku optički aktivnih spojeva. Prednosti SEC u mjerenju redoks procesa obuhvaćaju:

- mali volumen otopine,
- brzo postizanje ravnoteže,
- niska jakost struje i nizak pad napona,
- jednostavno održavanje anaerobnih uvjeta,
- jednostavno održavanje temperature.

4. Rezultati

4.1. Kemikalije i otopine

Istraživani manganoporfirini (MnTE-2-PyP i MnTE-3-PyP) su sintetizirani prema objavljenoj proceduri^{6, 12} i donirani od dr. sc. Ines Batinić-Haberle (Department of Radiation Oncology, Duke University Medical Center, Durham, Sjeverna Karolina, SAD). Matične otopine MnP su priređene otapanjem krutine u redestiliranoj vodi, a konačna koncentracija određena im je spektrofotometrijski korištenjem poznatih molarnih koeficijenata apsorbancije (ϵ_{455} (MnTE-2-PyP) = $1,38 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ i ϵ_{462} (MnTE-3-PyP) = $1,55 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

Oktacijanomolibdat(V), oksidans u pokusima kojima se istražuju svojstva Mn(IV)P, pripreman je oksidacijom $\text{K}_4[\text{Mo}(\text{CN})_8]$ kalijevim permanganatom u 0,1 M HClO_4 . Nastali $\text{Mn}^{2+}(\text{aq})$ kvantitativno je istaložen dodatkom NaOH, a nastali $\text{Mn}(\text{OH})_2$ uklonjen filtracijom. Koncentracija $[\text{Mo}^{\text{V}}(\text{CN})_8]^{3-}$ određena je spektrofotometrijski pomoću poznatog molarnog koeficijenta apsorbancije ($\epsilon_{388} = 1360 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).⁵⁷ $\text{K}_4[\text{Mo}(\text{CN})_8]$ sintetiziran je prema objavljenoj proceduri⁵⁸ i doniran od prof. dr. Nikole Kujundžića (Zavod za analitičku kemiju, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb).

Ostale kemikalije koje su korištene u pokusima su:

- askorbinska kiselina $\geq 99\%$, Fluka,
- CAPS (*N*-cikloheksil-3-aminopropansulfonska kiselina) $\geq 99\%$, Fluka,
- kalijev hidrogenftalat 99,99%, Acros Organics,
- kalijev heksacijanoferat(III) p.a., Merck,
- klorovodična kiselina min. 36,5 % p.a., Kemika,
- natrijev acetat-trihidrat p.a., Kemika,
- natrijev dihidrogenfosfat-dihidrat p.a., Kemika,
- natrijev hidrogenfosfat-dihidrat p.a., Kemika,

- natrijev hidroksid 1 M, TitriVal[®], Kemika,
- natrijev karbonat-dekahidrat p.a., Kemika,
- natrijev klorid p.a., Merck,
- natrijev perklorat p.a., Fluka,
- natrijev tetraborat p.p.a., Riedel-de Haën,
- perklorna kiselina 70% p.p.a., Fluka.

Voda korištena u pokusima redestilirana je u staklenoj aparaturi. Korišteno je dvostruko baždareno laboratorijsko posuđe.

4.1.1.1. *Otopina natrijevog perklorata (NaClO₄)*

Kruti NaClO₄ otopljen je u redestiliranoj vodi uz dodatak NaOH tako da konačna otopina ima vrijednost pH ≈ 10, čime dolazi do taloženja eventualno prisutnih onečišćenja kationima drugih kovina. Otopina je filtrirana i neutralizirana dodatkom HClO₄. Koncentracija konačne otopine određena je propuštanjem alikvota kroz kolonu jakog kationskog izmjenjivača Amberlite IR120. Oslobođeni H⁺ ioni titrirani su 0,1 M standardnom otopinom NaOH, uz fenolftalein kao indikator. Iz priređene koncentrirane otopine priređena je 2 M otopina NaClO₄ koja služi za podešavanje ionske jakosti.

4.1.1.2. *Otopina natrijevog hidroksida (NaOH)*

Pripremljena je otapanjem TitriVala (Kemika) u propisanoj količini redestilirane vode i čuvana u atmosferi dušika.

4.1.1.3. *Otopina perklorne kiseline (HClO_4)*

Otopina HClO_4 je pripremljena razrjeđivanjem koncentrirane HClO_4 i standardizirana titriranjem standardnom otopinom Na_2CO_3 uz indikator metiloranž. Nakon prve promjene boje indikatora otopina je zagrijana do vrenja kako bi se uklonio nastali CO_2 i potom dalje titrirana do konačne promjene boje otopine.

4.1.1.4. *Otopine za spektrofotometrijske titracije*

Pripreme se dodatkom odgovarajućeg volumena otopine NaClO_4 (odjeljak 4.1.1.1) i redestilirane vode tako da konačna koncentracija NaClO_4 bude 2 M. Spektar tako dobivene otopine služi kao bazna linija za spektrofotometrijska mjerenja. Prije titracije u otopinu se dodaju alikvoti matične otopine MnP. Alikvoti odgovarajućeg oksidansa ili reducensa dodaju se u pokusima kojima se istražuju svojstva Mn(IV)P ili Mn(II)P.

4.1.1.5. *Otopine za cikličku voltametriju i spektroelektrokemiju*

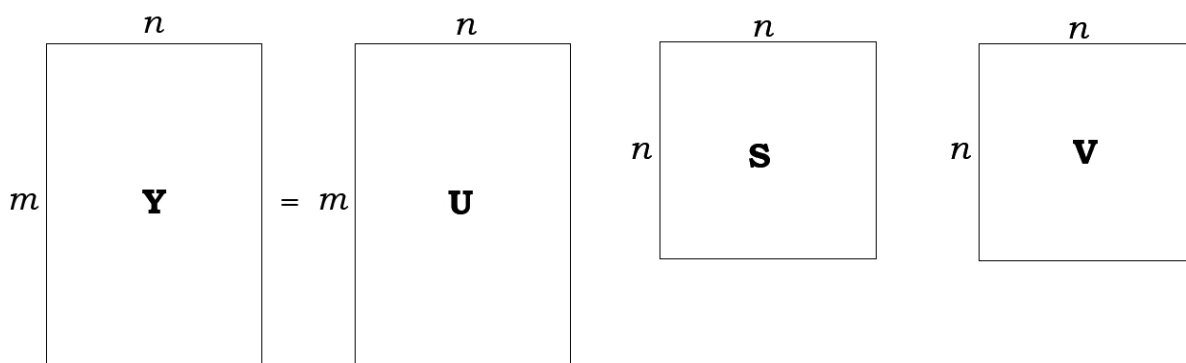
Pripremaju se otapanjem NaCl i odgovarajuće soli (NaH_2PO_4 , $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, CAPS, Na_2HPO_4), nakon čega se pomoću pH-metra baždarenog standardnim puferima pH 4,00, 7,00 i 10,00 podesi pH vrijednost otopine dodatkom odgovarajuće količine HCl ili NaOH . Otopine za cikličku voltametriju pri pH = 13 prirede se dodatkom odgovarajuće količine standardne otopine NaOH . Konačne otopine prirede se dodatkom alikvota matične otopine MnP u otopinu odgovarajuće vrijednosti pH. Prije izvođenja spektrofotometrijskih titracija pH elektroda je baždarena titracijom jake kiseline jakom bazom pri jednakim uvjetima (temperatura i ionska jakost) te za sve titracije vrijedi $\text{pH} = -\log c_{\text{H}^+}$). Koncentracija NaCl pri izvođenju mjerenja iznosi 0,1 M, a koncentracija pufera 50 mM, osim $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ čija koncentracija iznosi 25 mM.

4.2. Mjerni instrumenti

Za potenciometrijske titracije korišten je titrator Mettler DL50 s Mettler DG111-SC staklenom elektrodom i termostatiranom titracijskom posudom. Kalibracija pH-elektrode izvršena je titracijom jake kiseline jakim bazom u 2 M NaClO₄ i obradom dobivenih podataka u programu GLEE.⁵⁹

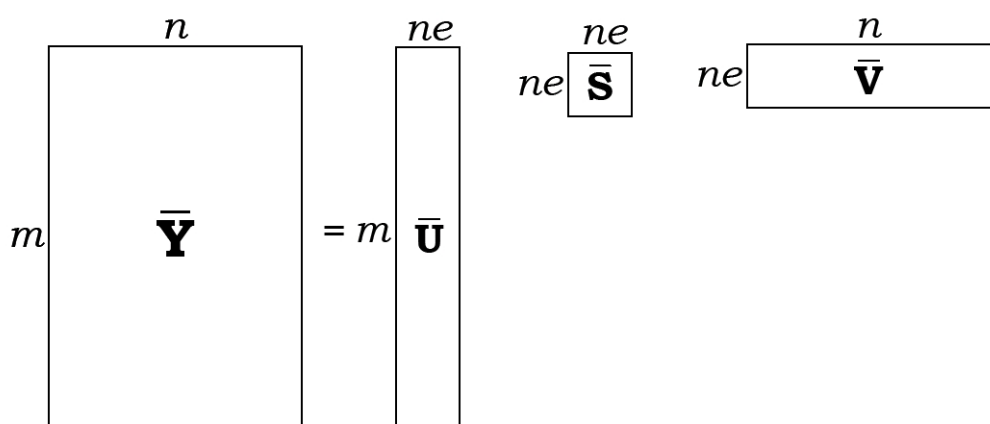
Spektri u ultraljubičastom i vidljivom području (UV-Vis) snimljeni su na spektrofotometru Varian Cary 50 opremljenom optičkom sondom ($l = 1$ cm) ili termostatiranim držačem kiveta. Za obradu dobivenih spektara korišten je program SPECFIT.⁶⁰⁻⁶² Broj spektrofotometrijski signifikantnih vrsta određen je faktorskom analizom integriranom u programu, a izabran je model koji daje najmanje vrijednosti standardne devijacije, σ , i najbolje odgovara eksperimentalnim podacima (fit). Faktorska analiza izvršena je prema algoritmu SVD (engl. *Singular Value Decomposition*), koji se smatra jednim od najstabilnijih, najrobusnijih i naj snažnijih numeričkih algoritama.⁶³ Prema tom algoritmu, matrica Y koja se sastoji od m redova i n stupaca, primjerice spektara snimljenih variranjem nekog eksperimentalnog parametra, dekomponira se u tri matrice, U , S i V , prema izrazu (4.1), odnosno shemi na slici 4.1.

$$Y = U S V^t \quad (4.1)$$



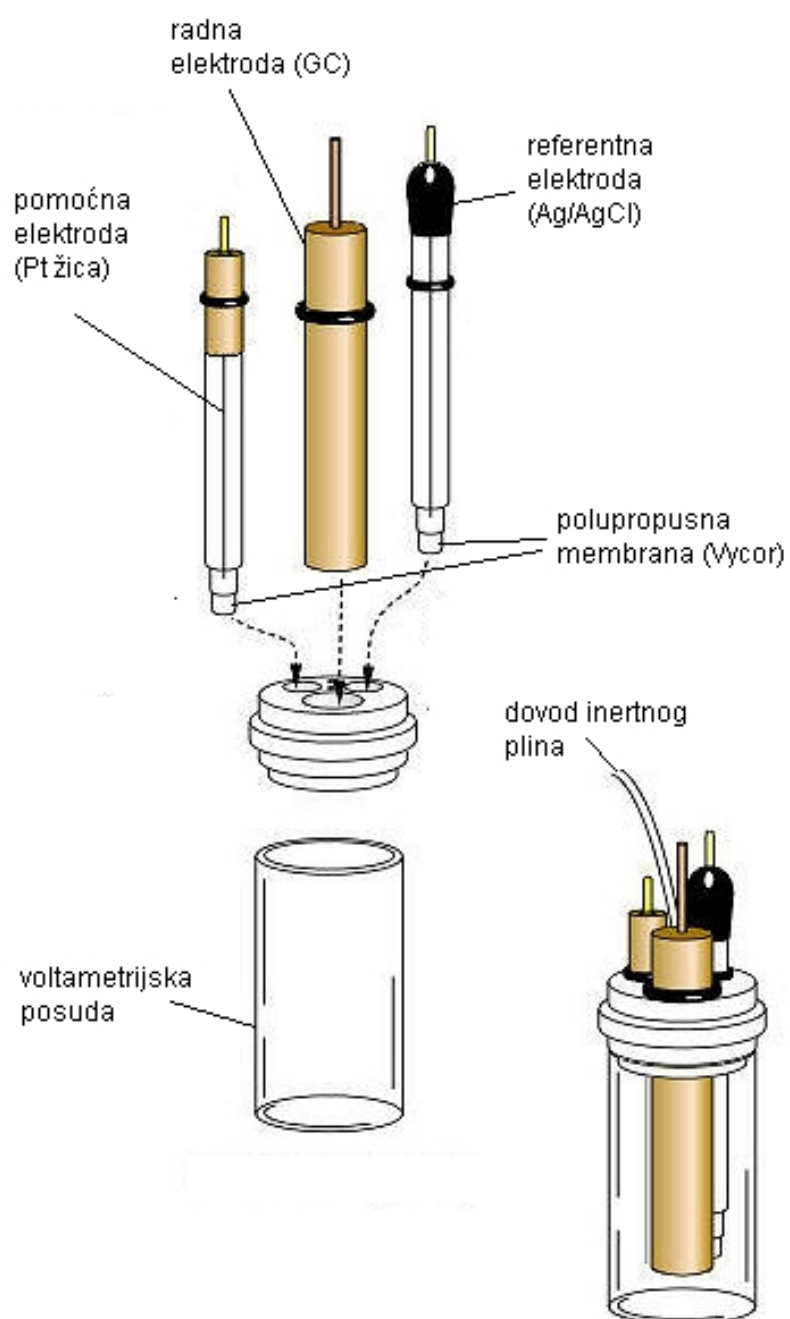
Slika 4.1 Grafički prikaz algoritma SVD: m i n označavaju broj redaka i stupaca u matricama.

Dijagonalna matrica S dobivena algoritmom sadrži vrijednosti koje se nazivaju singularnim vrijednostima ili eigenvrijednostima matrice Y , poredanih prema veličini, odnosno količini informacija koje sadrže. Odabirom samo prvih nekoliko signifikantnih eigenvrijednosti, ne , dobivaju se nove matrice \bar{U} , \bar{S} i \bar{V} pomoću kojih je moguće rekonstruirati matricu \bar{Y} prema shemi na slici 4.2 bez značajnog gubitka informacija u odnosu na početnu matricu Y , uz učinkovito uklanjanje šuma prisutnog u originalnim podacima. Matrice \bar{U} i \bar{V} sadrže vrijednosti koje se nazivaju singularnim vektorima ili eigenvektorima matrice \bar{Y} .

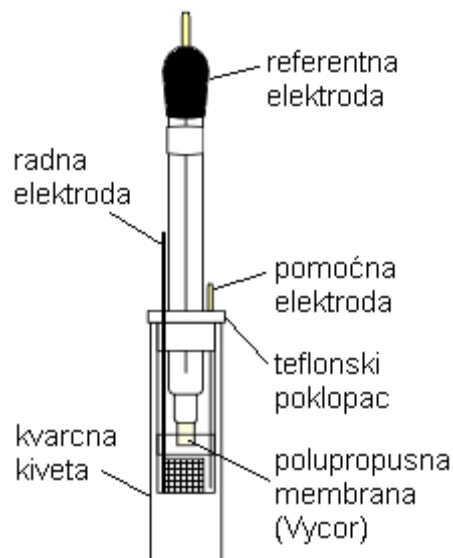


Slika 4.2 Grafički prikaz matrica dobivenih odabirom signifikantnih eigenvektora algoritmom SVD.

Za elektrokemijska mjerenja korišten je potencijostat CH Instruments CHI600D (verzija softvera 9.23). Cikličko-voltametrijska i kronokulometrijska mjerenja su izvedena u BASi VC-5 voltametrijskoj ćeliji (slika 4.3) opremljenoj dovodom inertnog plina, s radnom elektrodom od staklastog ugljika (GC) površine $0,07 \text{ cm}^2$, Ag/AgCl referentnom elektrodom (3 M NaCl) i platinskom žicom ($d = 0,5 \text{ mm}$) kao pomoćnom elektrodom. Spektroelektrokemijska mjerenja izvršena su u BASi SEC-C tankoslojnoj spektroelektrokemijskoj ćeliji ($l = 0,1 \text{ cm}$, slika 4.4) opremljenoj dovodom inertnog plina, s platinskom mrežicom (80-mesh) kao radnom elektrodom. Referentna i pomoćna elektroda su također Ag/AgCl elektroda (3 M NaCl) i platinska žica ($d = 0,5 \text{ mm}$). Elektrokemijska mjerenja simulirana su u programu DigiElch.⁶⁴



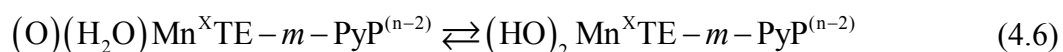
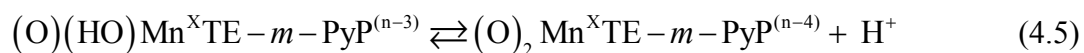
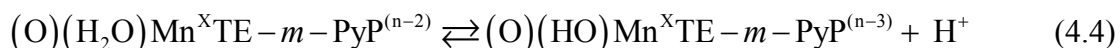
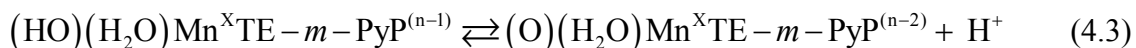
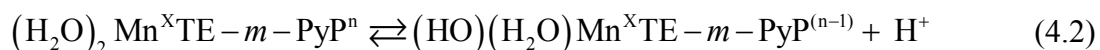
Slika 4.3 BASi VC-5 voltametrijska ćelija.



Slika 4.4 BASi SEC-C tankoslojna spektroelektrokemijska ćelija ($l = 0.1$ cm).

4.3. Kiselo-bazna svojstva kompleksa MnTE- m -PyP ($m = 2,3$)

U vodenim otopinama kompleksi Mn(III)P i Mn(IV)P mogu aksijalno koordinirati do dvije molekule vode koje deprotonacijom mogu stvarati hidrokso- i/ili okso- komplekse, prema jednadžbama (4.2) do (4.6).⁶⁵⁻⁶⁶



U ovim jednadžbama X predstavlja oksidacijsko stanje središnjeg iona (+3 ili +4), n je naboj diakva kompleksa, a m broj dušikova atoma piridilskih supstituenata.

Kompleksi Mn(II)P u vodenim otopinama mogu koordinirati jednu molekulu vode koje može deprotonirati prema jednadžbama (4.7) i (4.8).⁶⁵⁻⁶⁷



Konstante deprotonacije kompleksa Mn(III)P i Mn(IV)P definirane su jednadžbama (4.9) do (4.12).

$$K_{a1} = \frac{[(\text{HO})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{X}}\text{TE} - m - \text{PyP}^{(n-1)}][\text{H}^+]}{[(\text{H}_2\text{O})_2\text{Mn}^{\text{X}}\text{TE} - m - \text{PyP}^n]} \quad (4.9)$$

$$K_{a2} = \frac{[(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{X}}\text{TE} - m - \text{PyP}^{(n-2)}][\text{H}^+]}{[(\text{HO})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{X}}\text{TE} - m - \text{PyP}^{(n-1)}]} \quad (4.10)$$

$$K_{a3} = \frac{[(\text{O})(\text{HO})\text{Mn}^{\text{X}}\text{TE} - m - \text{PyP}^{(n-3)}][\text{H}^+]}{[(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{X}}\text{TE} - m - \text{PyP}^{(n-2)}]} \quad (4.11)$$

$$K_{a4} = \frac{[(\text{O})_2\text{Mn}^{\text{X}}\text{TE} - m - \text{PyP}^{(n-4)}][\text{H}^+]}{[(\text{O})(\text{HO})\text{Mn}^{\text{X}}\text{TE} - m - \text{PyP}^{(n-3)}]} \quad (4.12)$$

Konstante deprotonacije kompleksa Mn(II)P definirane su jednadžbama (4.13) i (4.14).

$$K_{a1} = \frac{[(\text{HO})\text{Mn}^{\text{II}}\text{TE} - m - \text{PyP}^{(n-1)}][\text{H}^+]}{[(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{II}}\text{TE} - m - \text{PyP}^n]} \quad (4.13)$$

$$K_{a2} = \frac{[(\text{O})\text{Mn}^{\text{II}}\text{TE} - m - \text{PyP}^{(n-2)}][\text{H}^+]}{[(\text{HO})\text{Mn}^{\text{II}}\text{TE} - m - \text{PyP}^{(n-1)}]} \quad (4.14)$$

4.3.1. Određivanje konstanta disocijacije Mn(III)P spektrofotometrijskim titracijama

Deprotonacije MnP popraćene su spektralnim promjenama koje je moguće pratiti u UV-Vis spektralnom području. Konstante deprotonacije određene su spektrofotometrijskim titracijama otopina MnP. Sve titracije su izvedene tako da su otopini MnP poznatog volumena pomoću titratora dodavani alikvoti standardne otopine NaOH, osim ako nije drugačije naznačeno u tekstu. Nakon miješanja i postizanja ravnoteže izmjerena je potencijal pH-elektrode i snimljen spektar otopine MnP.

Podaci dobiveni titracijama u kojima je opažena samo jedna deprotonacija obrađeni su prema izrazu (4.15), u kojem je A izmjerena apsorbancija, A_X računane apsorbancije protonirane (HA) i deprotonirane vrste (A^-), te K_a konstanta deprotonacije.

$$A = \frac{A_{HA} [H^+] + A_{A^-} K_a}{[H^+] + K_a} \quad (4.15)$$

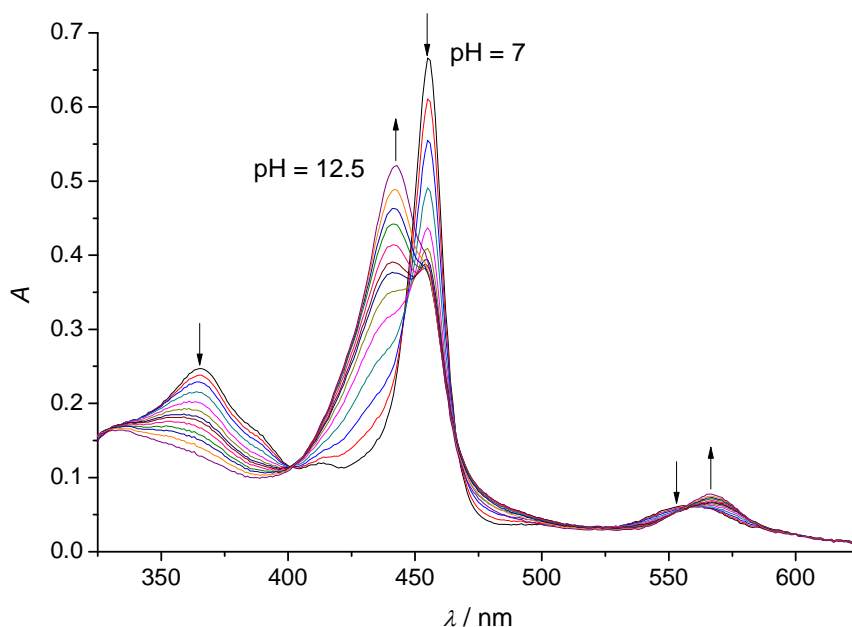
U slučaju da su opažene dvije deprotonacije, podaci su obrađeni prema izrazu (4.16), u kojem je A izmjerena apsorbancija, A_X računane apsorbancije protonirane (H_2A), mono-deprotonirane (HA) i di-deprotonirane vrste (A^-), te K_{a1} i K_{a2} prva, odnosno druga konstanta deprotonacije.

$$A = \frac{A_{H_2A} [H^+]^2 + A_{HA^-} K_{a1} [H^+] + A_{A^{2-}} K_{a1} K_{a2}}{[H^+]^2 + K_{a1} [H^+] + K_{a1} K_{a2}} \quad (4.16)$$

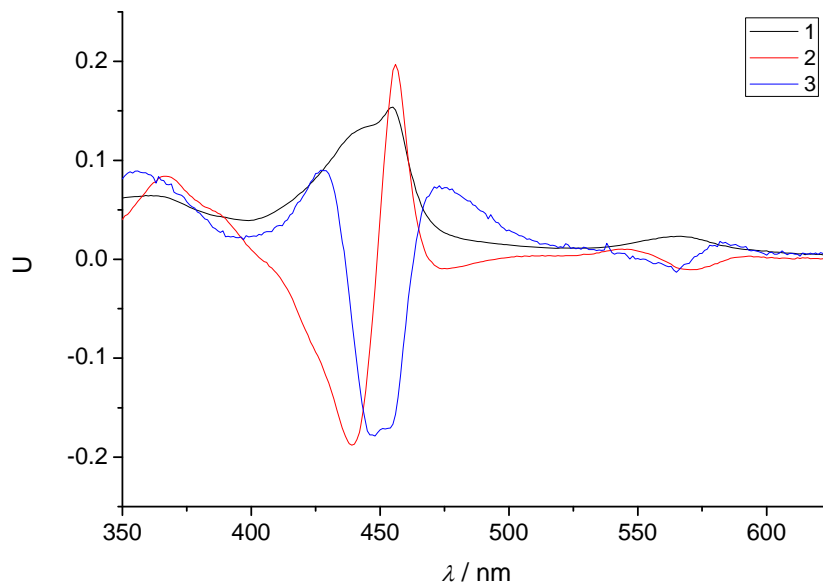
Razlike između izmjerene i apsorbancije dobivene modelom nazivaju se rezidualima apsorbancije, A_r .

4.3.1.1. Disocijacija Mn(III)TE-2-PyP

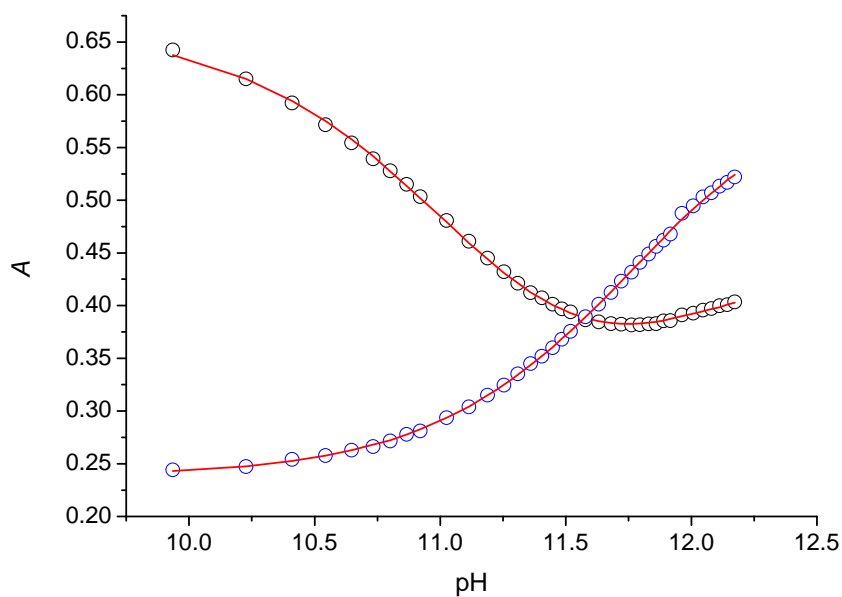
Tipična izmjerena spektralna promjena kompleksa Mn(III)TE-2-PyP u vodenoj otopini kao posljedica promjene pH prikazana je na slici 4.5. S obzirom da nikakva spektralna promjena nije uočena u području pH između 1,5 i 7, spektri izmjereni u tom području nisu prikazani. Izostanak izozbestičnih točaka tijekom titracije upućuje na složenu ravnotežu koja uključuje barem tri spektralne specije. Faktorska analiza u programu SPECFIT potvrđuje postojanje tri relevantne spektralne specije povezane kiselo-baznom ravnotežom definiranom dvjema pK_a (slika 4.6). Obradom eksperimentalnih podataka prema takvom reakcijskom modelu definiranom jednačbom (4.16) rezultiralo je vrijednostima $pK_{a1} = 10,89 \pm 0,01$ i $pK_{a2} = 11,62 \pm 0,02$. Preciznost modela moguće je procijeniti usporedbom izmjerenih i računanih vrijednosti apsorbancije na valnim duljinama koje odgovaraju maksimumima apsorbancije protonirane i di-deprotonirane vrste Mn(III)TE-2-PyP (slika 4.7). Model dobro opisuje opaženu promjenu, što dodatno potvrđuju niske vrijednosti reziduala apsorbancije, $A_r < 0,01$, i njihov nasumičan izgled prikazan na slici 4.8. Teorijski spektri specija predloženih modelom prikazani su na slici 4.9.



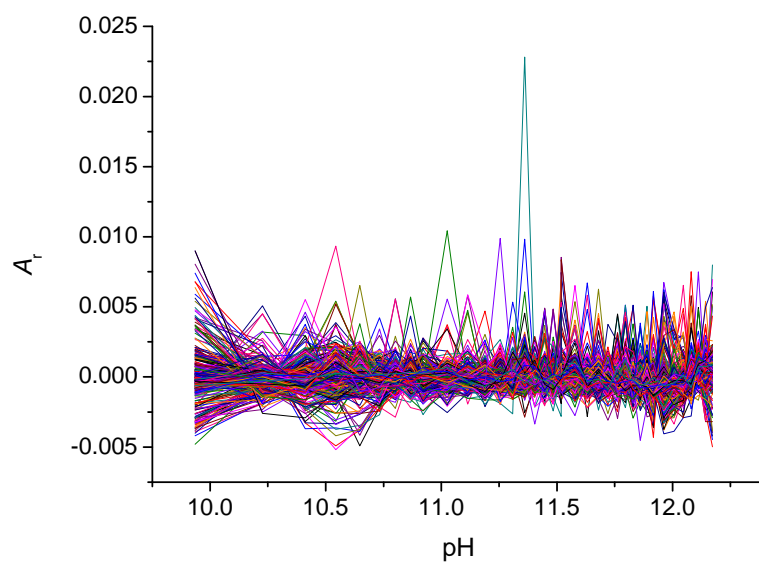
Slika 4.5. Tipična titracija 4,8 μM otopine Mn(III)TE-2-PyP u 2 M NaClO_4 standardnom 0,2 M otopinom NaOH ($t = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $l = 1\text{ cm}$). Vrijednost pH otopine mijenjana je od 7 do 12,5 (neki spektri nisu prikazani radi preglednosti).



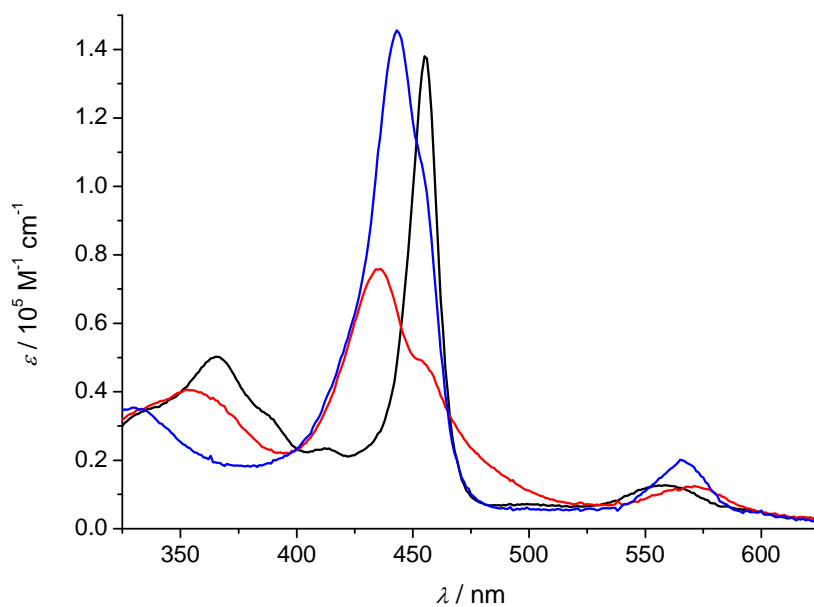
Slika 4.6. Spektralni eigenvektori 1-3 dobiveni faktorskom analizom titracije na slici 4.5.



Slika 4.7. Usporedba izmjerenih ($\lambda = 454$ nm (\circ), $\lambda = 443$ nm (\circ)) i izračunanih (—) vrijednosti apsorbancije titracije na slici 4.5. Odabrane vrijednosti λ su maksimumi apsorbancije ne-deprotonirane i di-deprotonirane vrste prema modelu (4.16).



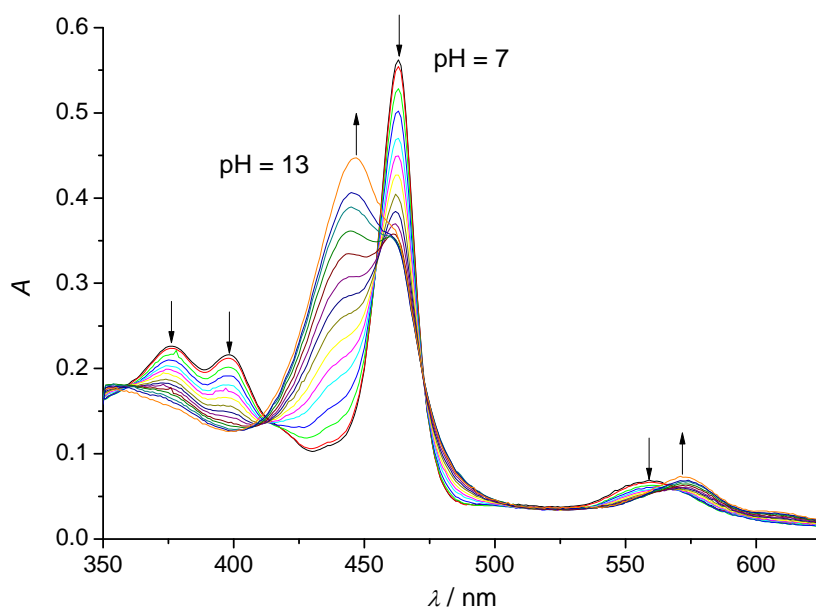
Slika 4.8. Reziduali apsorbancije titracije na slici 4.5 nakon obrade podataka modelom (4.16).



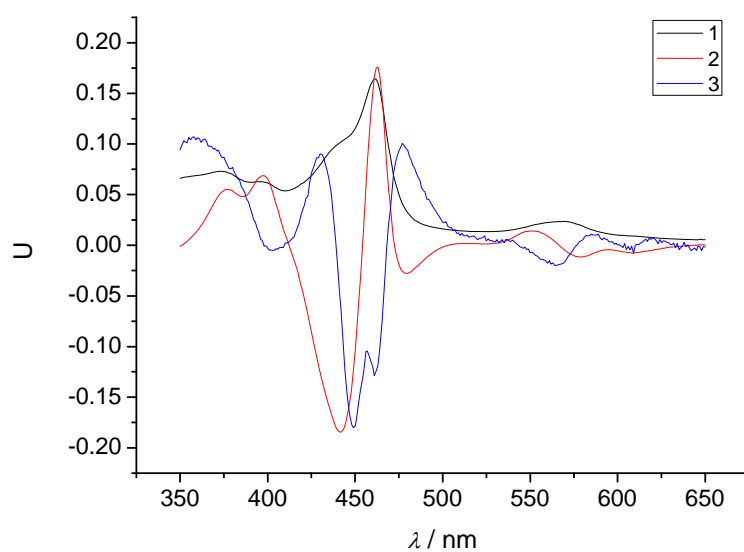
Slika 4.9. Teorijski spektri specija titracije na slici 4.5 dobiveni prema modelu (4.16): ne-deprotonirana (—), mono-deprotonirana (—) i di-deprotonirana specija (—).

4.3.1.2. Disocijacija Mn(III)TE-3-PyP

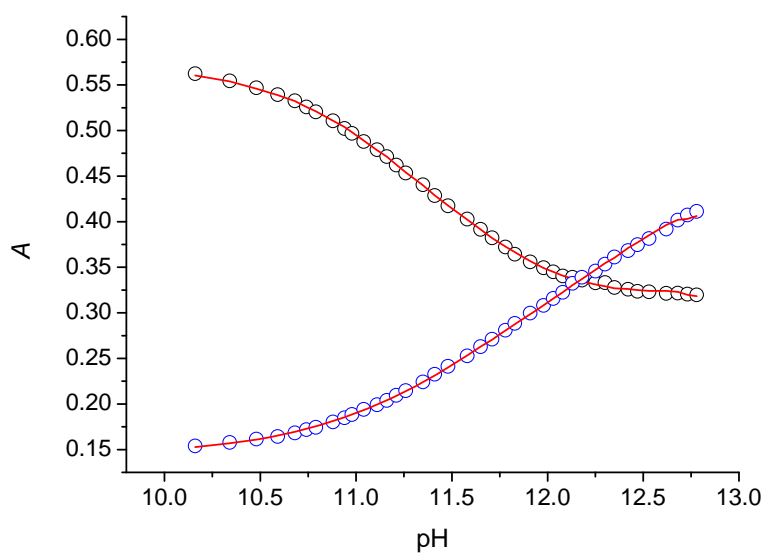
Promjenom pH vrijednosti otopine Mn(III)TE-3-PyP moguće je zabilježiti spektralnu promjenu nalik opaženoj titracijom Mn(III)TE-2-PyP. Ponovo je moguće uočiti izostanak izozbestičnih točaka, što također upućuje na kiselo-baznu ravnotežu definiranu dvjema pK_a . Jednakom obradom podataka u programu SPECFIT potvrđene su tri relevantne spektralne vrste i dobivene vrijednosti konstanta disocijacije $pK_{a1} = 11,57 \pm 0,01$ i $pK_{a2} = 12,70 \pm 0,09$. Opažene spektralne promjene, rezultati faktorske analize, preciznost modela i teorijski spektri specija prikazani su na slikama 4.10 do 4.14.



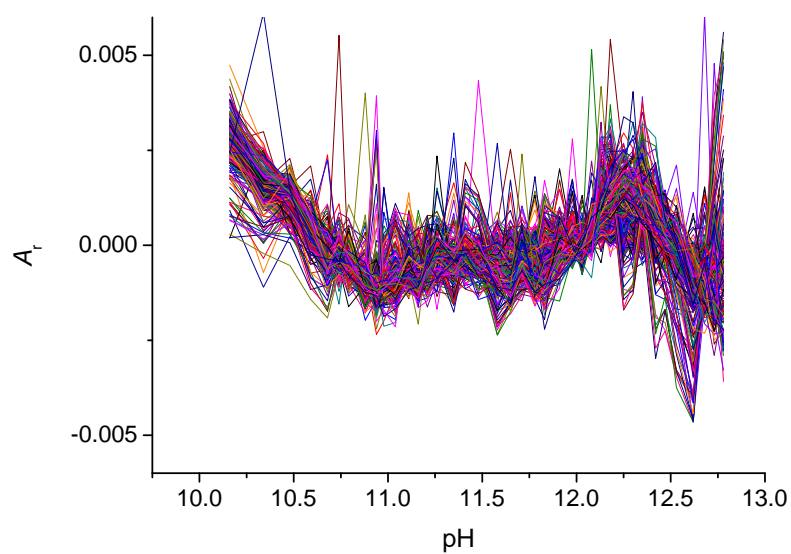
Slika 4.10. Tipična titracija 3,6 μ M otopine Mn(III)TE-3-PyP u 2 M NaClO₄ standardnom 0,2 M otopinom NaOH ($t = 25$ °C, $l = 1$ cm). Vrijednost pH otopine mijenjana je od 7 do 13 (neki spektri nisu prikazani radi preglednosti).



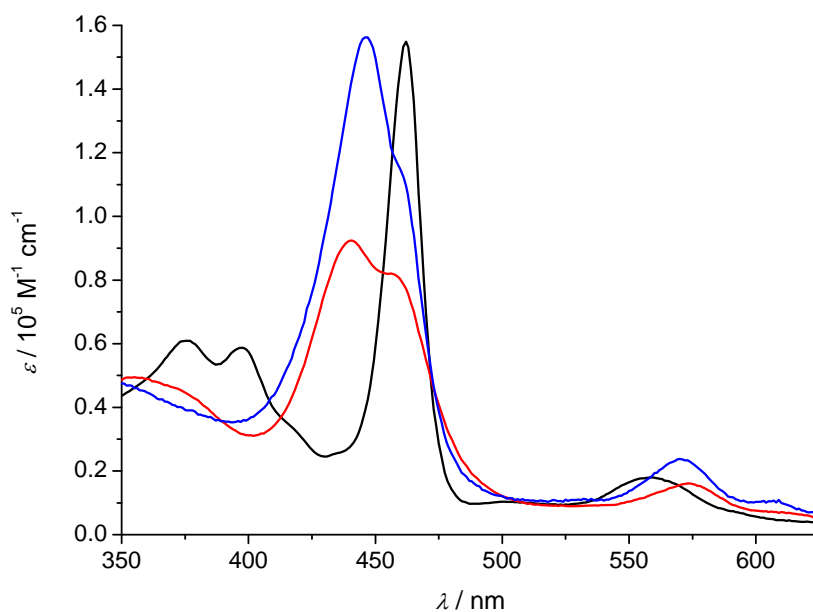
Slika 4.11 Spektralni eigenvektori 1-3 dobiveni faktorskom analizom podataka titracije na slici 4.10.



Slika 4.12 Usporedba izmjerenih ($\lambda = 462$ nm (\circ), $\lambda = 446$ nm (\circ)) i računanih (—) vrijednosti apsorbancije titracije na slici 4.10. Odaabrane vrijednosti λ su maksimumi apsorbancije ne-deprotonirane i di-deprotonirane vrste prema modelu (4.16).



Slika 4.13. Reziduali apsorbancije titracije na slici 4.10 nakon obrade podataka prema modelu (4.16).



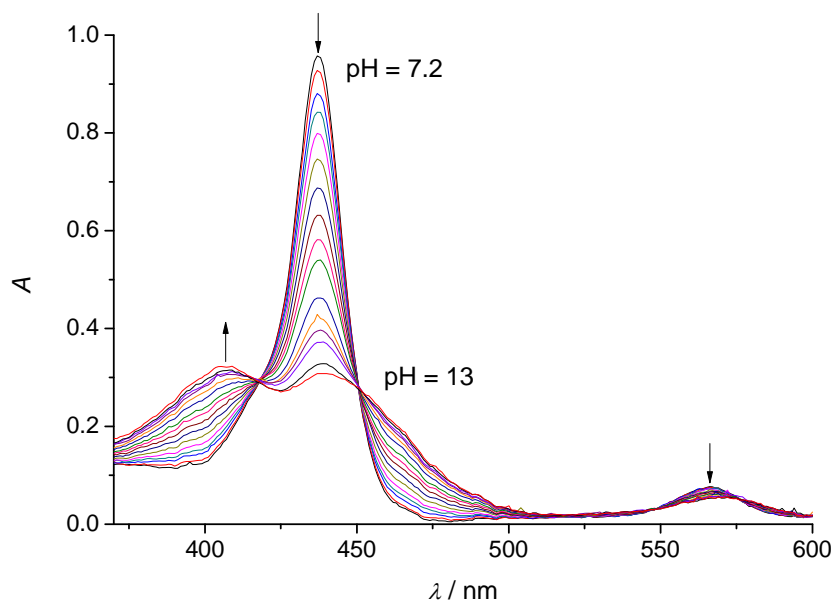
Slika 4.14 Teorijski spektri specija titracije na slici 4.10 dobiveni prema modelu (4.16): ne-deprotonirana (—), mono-deprotonirana (—) i di-deprotonirana specija (—).

4.3.2. Određivanje konstanta disocijacije Mn(II)P spektrofotometrijskim titracijama

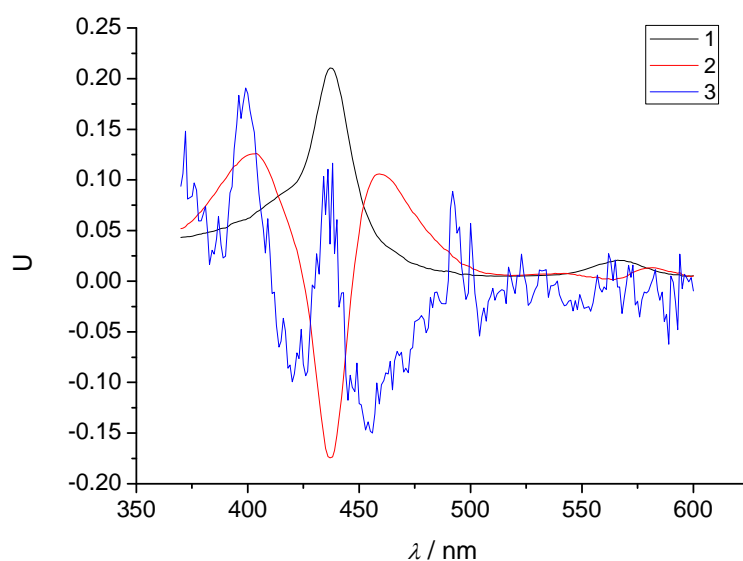
Literaturni podaci upućuju na mogućnost raspada Mn(II) kompleksa u kiselom mediju^{65,66} pa je prije izvođenja spektrofotometrijskih titracija provjerena stabilnost MnP nakon elektroredukcije u vodenim otopinama pri različitim vrijednostima pH (odjeljak 4.4.7). Utvrđeno je da je u području $\text{pH} > 7$ moguće izvoditi titracije na način kako je opisano u odjeljku 4.3.1. Redukcija Mn(III) kompleksa postignuta je dodatkom askorbinske kiseline (odjeljak 4.4.1), uz izvođenje titracije u inertnoj atmosferi argona.

4.3.2.1. Disocijacija Mn(II)TE-2-PyP

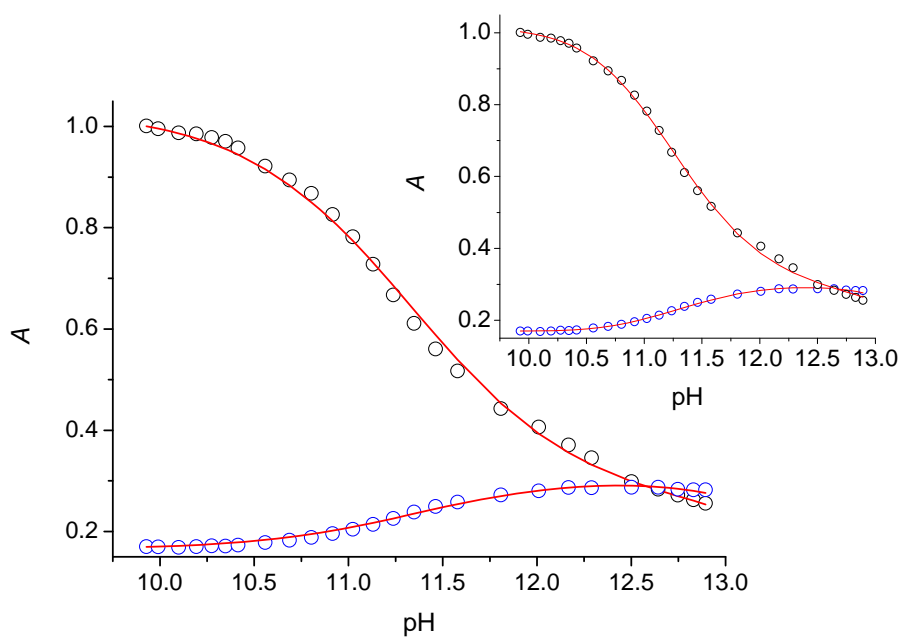
Potpuna redukcija Mn(III)TE-2-PyP u vodenoj otopini pri vrijednosti $\text{pH} \geq 7$ postignuta je u prisutnosti 1 mM askorbinske kiseline. Tipična izmjerena spektralna promjena kompleksa Mn(II)TE-2-PyP u vodenoj otopini kao posljedica promjene pH prikazana je na slici 4.15. Faktorska analiza u programu SPECFIT upućuje na barem dvije relevantne apsorbirajuće specije u otopini, ali postojanje treće specije nije moguće potpuno isključiti (slika 4.16). Prema tome, podaci prikazani na slici 4.15 usporedno su obrađeni prema modelima (4.15) (2 spektralne specije i jedna pK_a) i (4.16) (3 spektralne specije i dvije pK_a). Obradom prema modelu (4.15) dobivena je vrijednost $\text{pK}_a = 11,75 \pm 0,01$, dok su prema modelu (4.16) dobivene vrijednosti $\text{pK}_{a1} = 9,7 \pm 0,2$ i $\text{pK}_{a2} = 11,76 \pm 0,01$. Rezultati obrade prikazani su na slikama 4.16 do 4.20.



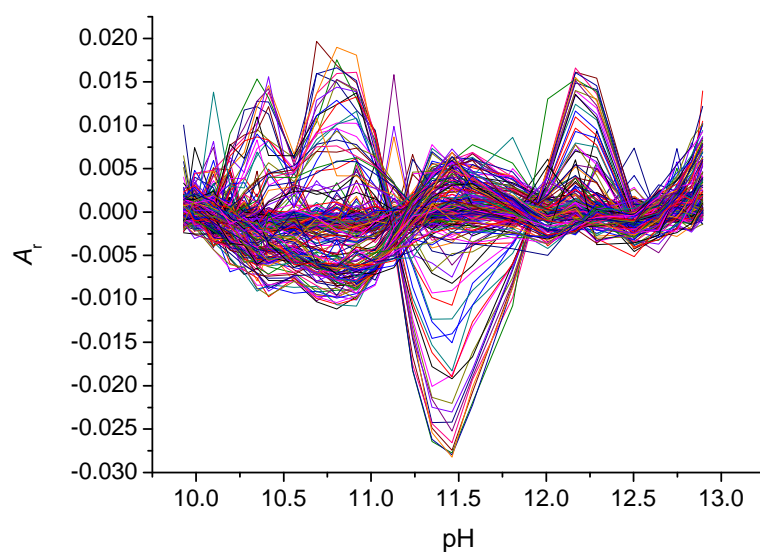
Slika 4.15. Tipična titracija 5 μM otopine Mn(III)TE-2-PyP u prisutnosti 1 mM askorbinske kiseline u 2 M NaClO_4 standardnom 0,2 M otopinom NaOH ($t = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $l = 1\text{ cm}$). Vrijednost pH otopine mijenjana je od 7,2 do 13 (neki spektri nisu prikazani radi preglednosti). Spektri zabilježeni u području pH < 7 prikazani su na slici 4.45.



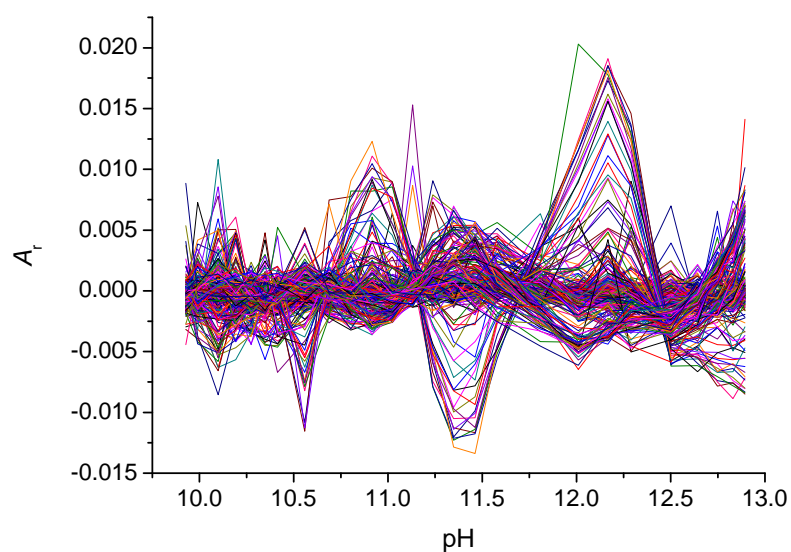
Slika 4.16. Spektralni eigenvektori 1-3 dobiveni faktorskom analizom titracije na slici 4.15.



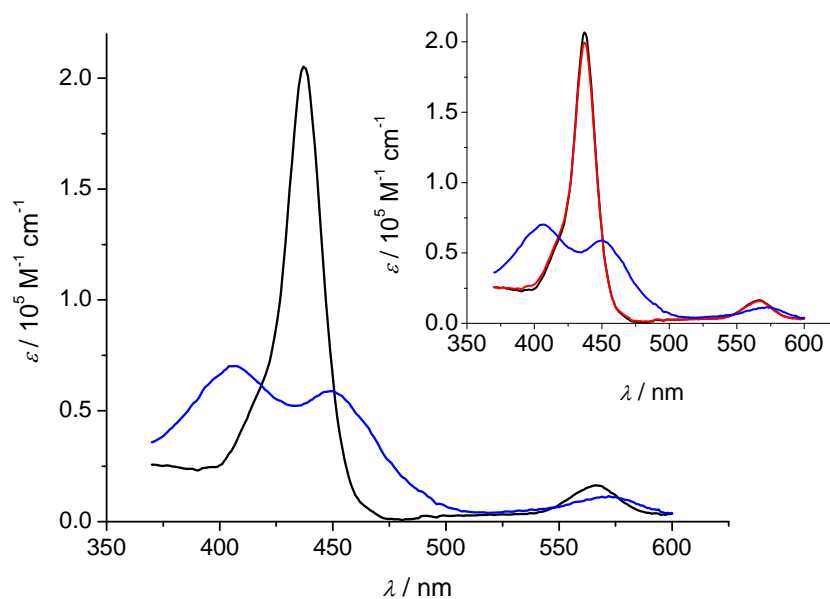
Slika 4.17. Usporedba izmjerenih ($\lambda = 437$ nm (\circ), $\lambda = 407$ nm (\odot)) i izračunanih (—) vrijednosti apsorbancije titracije na slici 4.15. Odabrane vrijednosti λ su maksimumi apsorbancije protonirane i deprotonirane vrste prema modelu (4.15). Umetak: Usporedba izmjerenih i izračunanih vrijednosti apsorbancije titracije na slici 4.15 prema modelu (4.16).



Slika 4.18. Reziduali apsorbancije titracije na slici 4.15 nakon obrade podataka prema modelu (4.15).



Slika 4.19. Reziduali apsorbancije titracije na slici 4.15 nakon obrade podataka prema modelu (4.16).



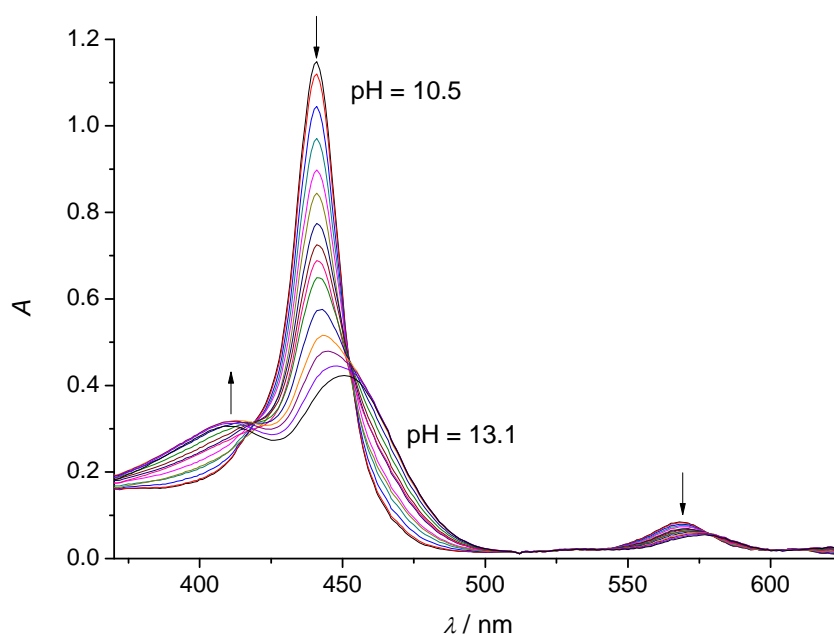
Slika 4.20. Teorijski spektralni specija titracije na slici 4.15 dobivene prema modelu (4.15): protonirana (—) i deprotonirana specija (—). Umetak: Teorijski spektri specija titracije na slici 4.15 dobiveni prema modelu (4.16): ne-deprotonirana (—), mono-deprotonirana (—) i di-deprotonirana specija (—).

Obrada podataka prema modelu (4.16) daje nešto bolje rezultate, što se i očekuje s obzirom na veći broj stupnjeva slobode. Ipak, standardna devijacija obrade prema modelu (4.16) samo je

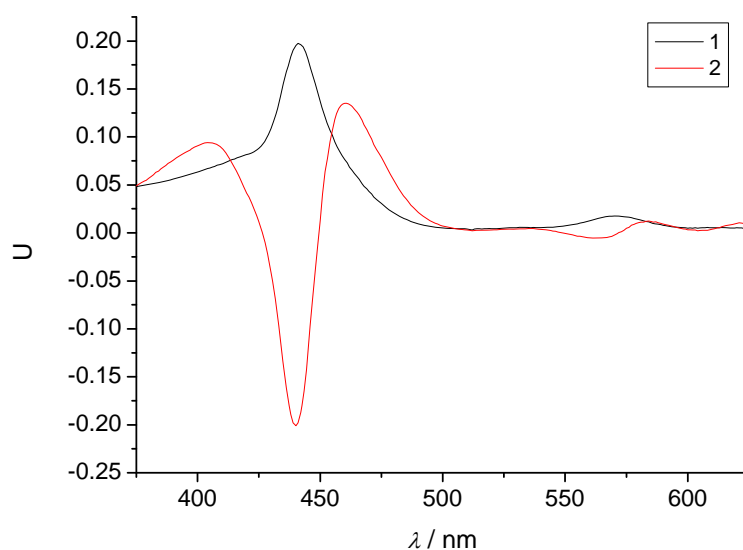
neznatno manja u odnosu na obradu prema modelu (4.15) ($\sigma = 1,8 \times 10^{-3}$ vs. $\sigma = 2,1 \times 10^{-3}$). Reziduali apsorbancije vrlo su slični za oba modela, a predviđeni spektri ne-deprotonirane i mono-deprotonirane specije prema modelu (4.16) praktički su jednaki. Nadalje, vrijednost pK_a dobivena modelom (4.15) vrlo je slična vrijednosti pK_{a2} dobivenoj modelom (4.16), dok je vrijednost pK_{a1} prema modelu (4.16) karakterizirana deset puta većom standardnom devijacijom od vrijednosti pK_{a2} ($\sigma = 0,20$ vs. $\sigma = 0,01$). Iz navedenog je moguće zaključiti kako prikazano mjerenje sa sigurnošću potvrđuje smo jednu deprotonaciju Mn(II)TE-2-PyP u lužnatom području pH, $pK_a = 11,75 \pm 0,01$, prema modelu (4.15).

4.3.2.2. *Disocijacija Mn(II)TE-3-PyP*

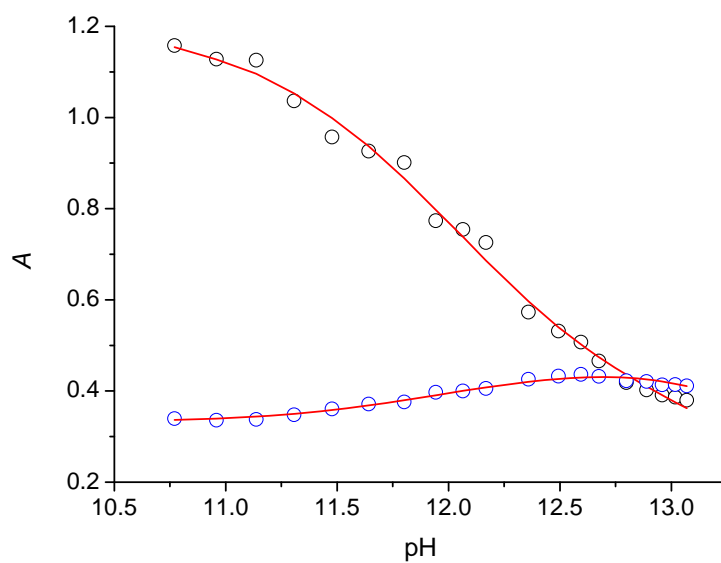
Titracija otopine Mn(II)TE-3-PyP također je izvedena u atmosferi argona, ali u prisutnosti 10 mM askorbinske kiseline. S obzirom na negativniji standardni redukcijski potencijal Mn(III)TE-3-PyP nego Mn(III)TE-2-PyP, potpuna redukcija askorbinskom kiselinom nije postignuta pri vrijednostima pH < 10,5, čak ni u prisutnosti 10 puta veće koncentracije reducensa nego Mn(III)TE-2-PyP. Opažena spektralna promjena prikazana na slici 4.21 vrlo je nalik promjeni opisanoj u odjeljku 4.3.2.1. Obradom podataka prema modelu (4.15) dobivena je vrijednost $pK_a = 12,04 \pm 0,03$ (rezultati obrade prikazani su na slikama 4.22 do 4.25). Teorijski spektri pokazuju sličnost između vrsta Mn(II)P obaju promatranih spojeva. Valja također primijetiti kako se spektri specija dobiveni elektrokemijskom i kemijskom redukcijom Mn(III)TE-3-PyP askorbinskom kiselinom izvrsno podudaraju (slika 4.108).



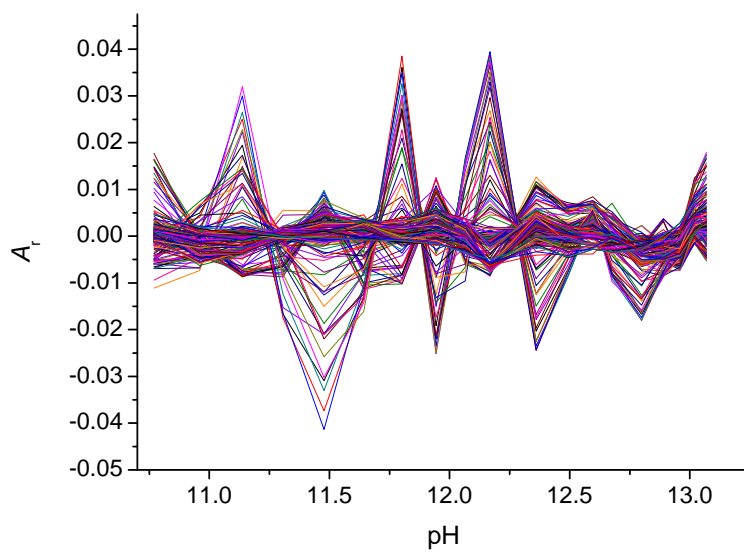
Slika 4.21. Tipična titracija 4 μM otopine Mn(III)TE-3-PyP u prisutnosti 10 mM askorbinske kiseline u 2 M NaClO_4 standardnom 0,2 M otopinom NaOH ($t = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $l = 1\text{ cm}$). Vrijednost pH otopine mijenjana je od 10,5 do 13,1 (neki spektri nisu prikazani radi preglednosti). Spektri zabilježeni u području pH < 10,5 prikazani su na slici 4.46.



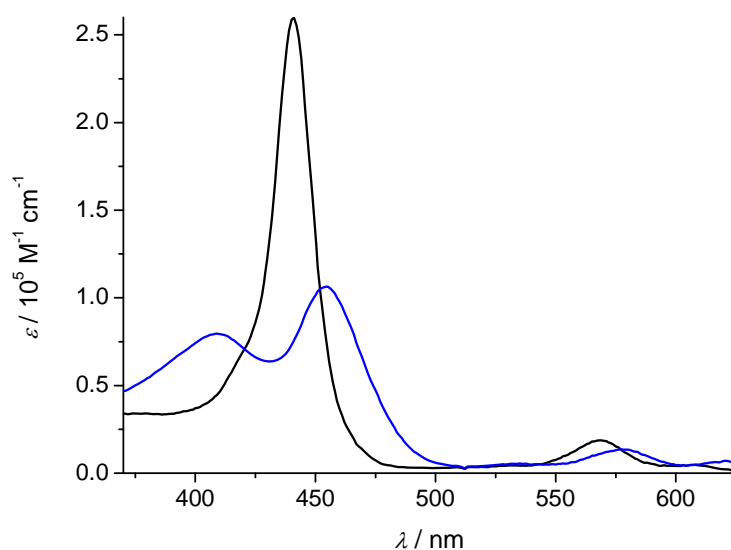
Slika 4.22. Spektralni eigenvektori 1-2 dobiveni faktorskom analizom podataka titracije na slici 4.21.



Slika 4.23. Usporedba izmjerenih ($\lambda = 441 \text{ nm}$ (\circ), $\lambda = 455 \text{ nm}$ (\odot)) i izračunanih (—) vrijednosti apsorbancije titracije na slici 4.21. Odabrane vrijednosti λ su maksimumi apsorbancije protonirane i deprotonirane vrste prema modelu (4.15).



Slika 4.24. Reziduali apsorbancije titracije na slici 4.21 nakon obrade podataka prema modelu (4.15).



Slika 4.25. Teorijski spektri specija titracije na slici 4.21 dobiveni prema modelu (4.15): protonirana (—) i deprotonirana specija (—).

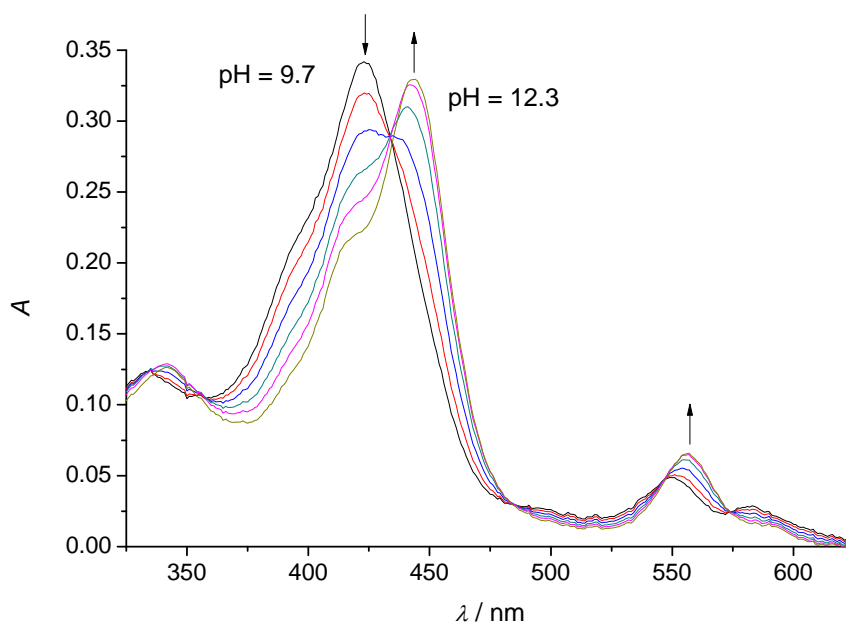
4.3.3. Određivanje konstanta disocijacije Mn(IV)P spektrofotometrijskim titracijama

Oksidacija kompleksa Mn(III)P postignuta je dodatkom oktacijanomolibdata(V) kao učinkovitog oksidansa (odjeljak 4.4.2), uz izvođenje titracije u inertnoj atmosferi argona. U otopinama čija je vrijednost $\text{pH} < 9,7$ reducirani oblik kompleksa je toliko stabilan da eventualna konstanta deprotonacije kompleksa Mn(IV)P u tom području pH nije dostupna titracijama u prisutnosti $[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}$.

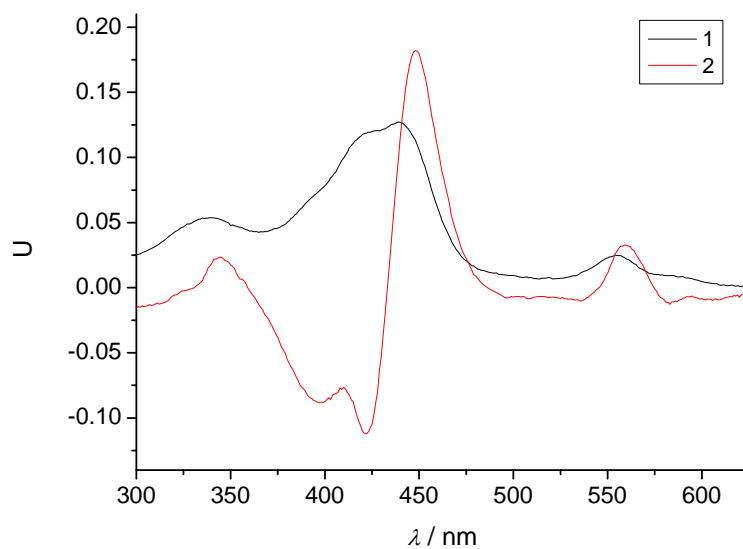
4.3.3.1. Disocijacija Mn(IV)TE-2-PyP

Potpuna oksidacija Mn(III)TE-2-PyP u vodenoj otopini pri vrijednostima $\text{pH} \geq 9.7$ postignuta je u prisutnosti $0.1 \text{ mM } [\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}$. Tipična izmjerena spektralna promjena kompleksa Mn(IV)TE-2-PyP u vodenoj otopini kao posljedica promjene pH prikazana je na slici 4.26. Faktorska analiza u programu SPECFIT upućuje na dvije relevantne spektralne specije povezane jednom pK_a . Obradom podataka prema modelu (4.15) dobivena je vrijednost

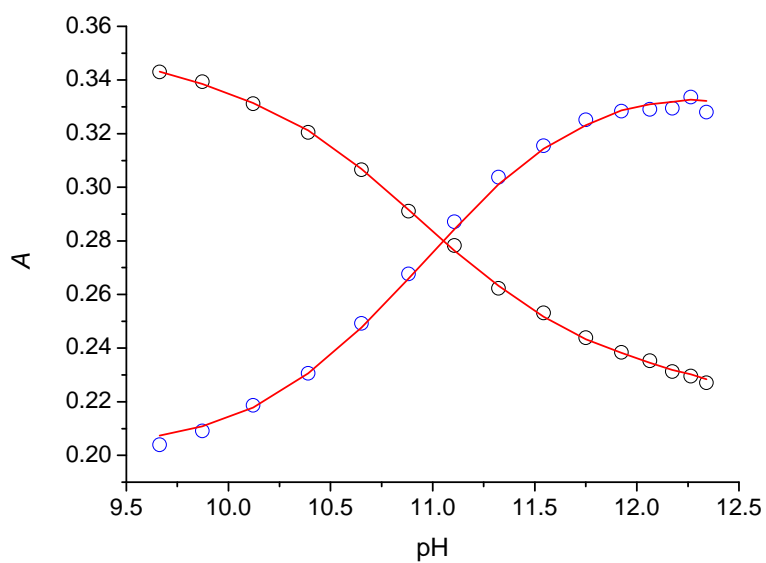
konstante disocijacije $pK_a = 11,14 \pm 0,02$ (slike 4.27 do 4.30). S obzirom da u području $pH > 12,3$ nije uočena dalja spektralna promjena, spektri izmjereni u tom području nisu prikazani.



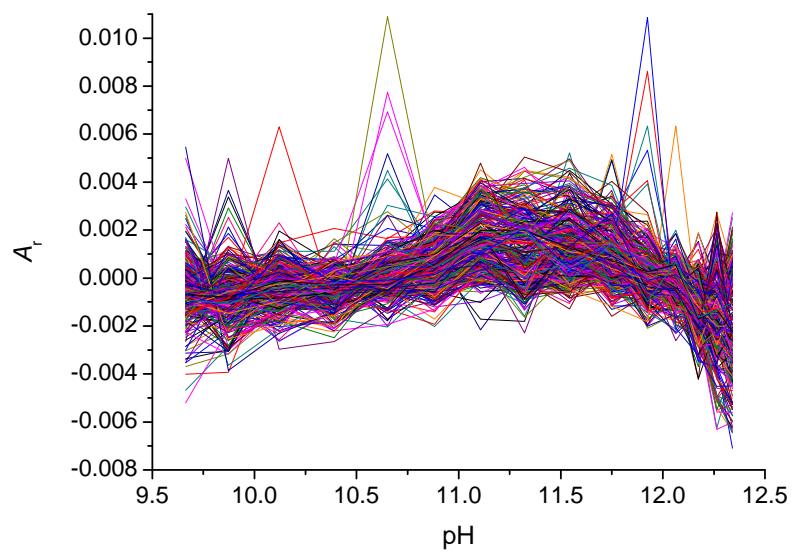
Slika 4.26. Tipična titracija $4,6 \mu\text{M}$ otopine Mn(III)TE-2-PyP u prisutnosti $0,1 \text{ mM } [\text{Mo(CN)}_8]^{3-}$ u 2 M NaClO_4 standardnom $0,2 \text{ M}$ otopinom NaOH ($t = 25^\circ\text{C}$, $l = 1 \text{ cm}$). Vrijednost pH otopine mijenjana je od $9,7$ do $12,3$ (neki spektri nisu prikazani radi preglednosti). Spektri zabilježeni u području $pH < 9,7$ prikazani su na slici 4.55.



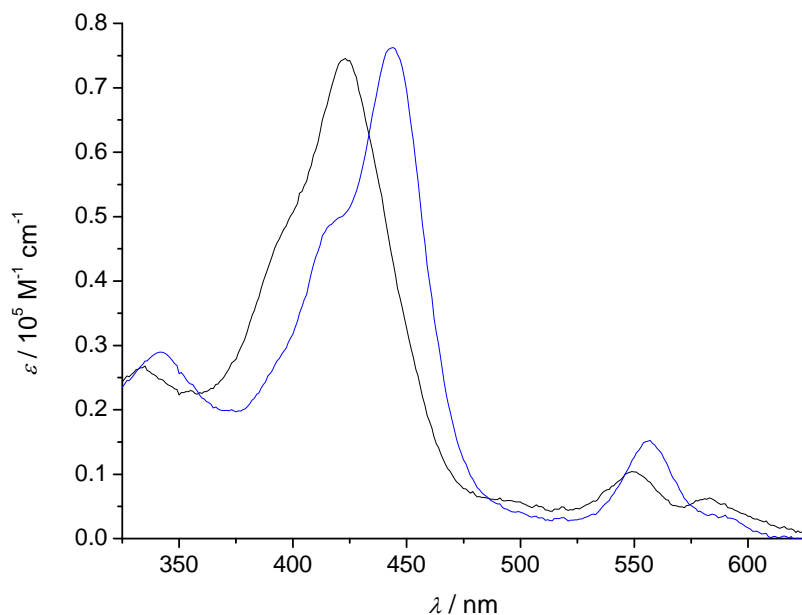
Slika 4.27. Spektralni eigenvektori 1-2 dobiveni faktorskom analizom podataka titracije na slici 4.26.



Slika 4.28. Usporedba izmjerenih ($\lambda = 423$ nm (\circ), $\lambda = 444$ nm (\circ)) i izračunanih (—) vrijednosti apsorbancije titracije na slici 4.26. Odabrane vrijednosti λ su maksimumi apsorbancije protonirane i deprotonirane vrste prema modelu (4.15).



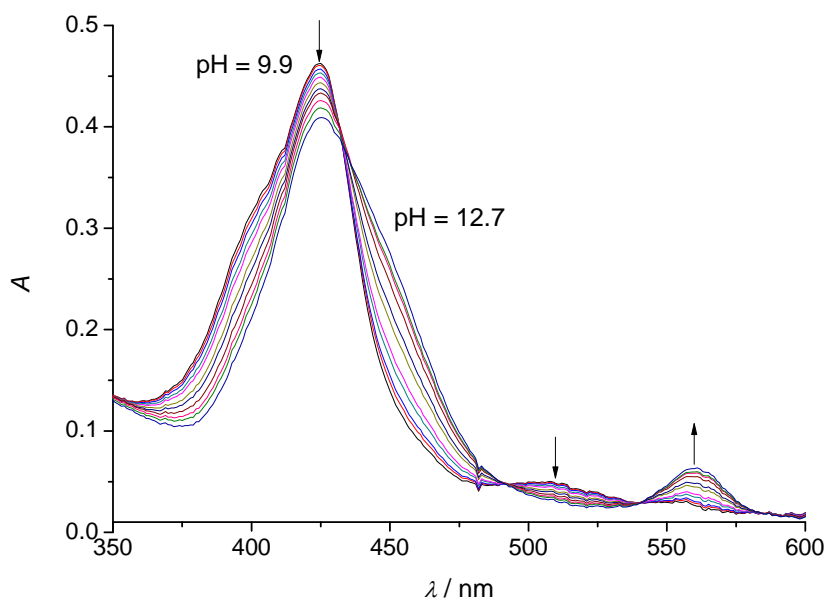
Slika 4.29. Reziduali apsorbancije titracije na slici 4.26 nakon obrade podataka prema modelu (4.15).



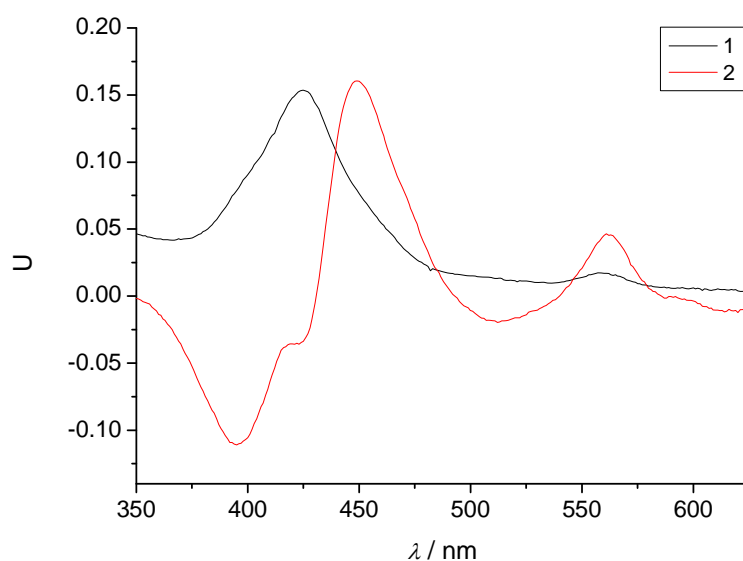
Slika 4.30. Teorijski spektri specija titracije na slici 4.26 dobiveni prema modelu (4.15): protonirana (—) i deprotonirana specija (—).

4.3.3.2. *Disocijacija Mn(IV)TE-3-PyP*

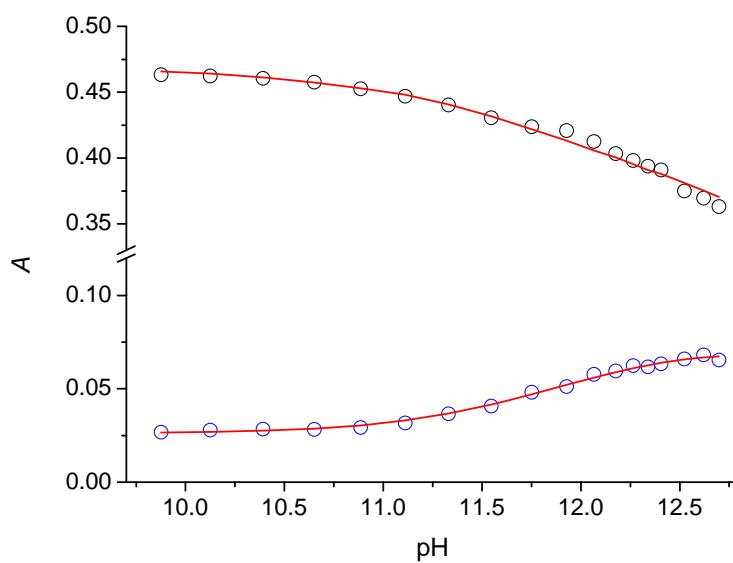
Titracija Mn(IV)TE-3-PyP izvedena je u jednakim uvjetima kao titracija u odjeljku 4.3.3.1. Tipična izmjerena spektralna promjena kompleksa Mn(IV)TE-3-PyP u vodenoj otopini pri vrijednostima $\text{pH} \geq 9,9$ prikazana je na slici 4.31. Faktorska analiza u programu SPECFIT upućuje na dvije relevantne spektralne specije povezane jednom $\text{p}K_a$. Obradom podataka prema modelu (4.15) dobivena je vrijednost konstante disocijacije $\text{p}K_a = 11,99 \pm 0,04$ (slike 4.32 do 4.35). Spektri izmjereni području $\text{pH} > 12,7$ nisu prikazani jer nije uočena dalja spektralna promjena.



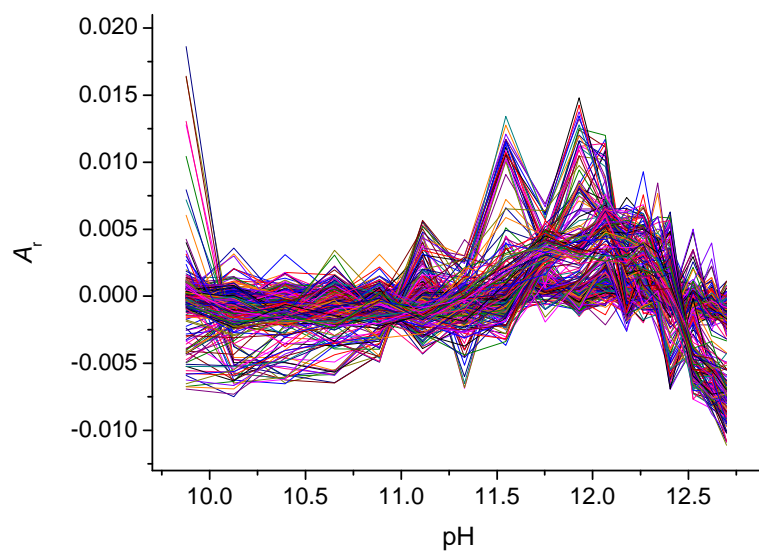
Slika 4.31. Tipična spektralna promjena 4,8 μM otopine Mn(III)TE-3-PyP u prisutnosti 0,1 mM $[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}$ u 2 M NaClO_4 u titraciji standardnom 0,2 M otopinom NaOH ($t = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $l = 1\text{ cm}$). pH otopine mijenjan je od 9,9 do 12,7 (neki spektri nisu prikazani radi preglednosti). Spektri zabilježeni u području pH < 9,9 prikazani su na slici 4.56.



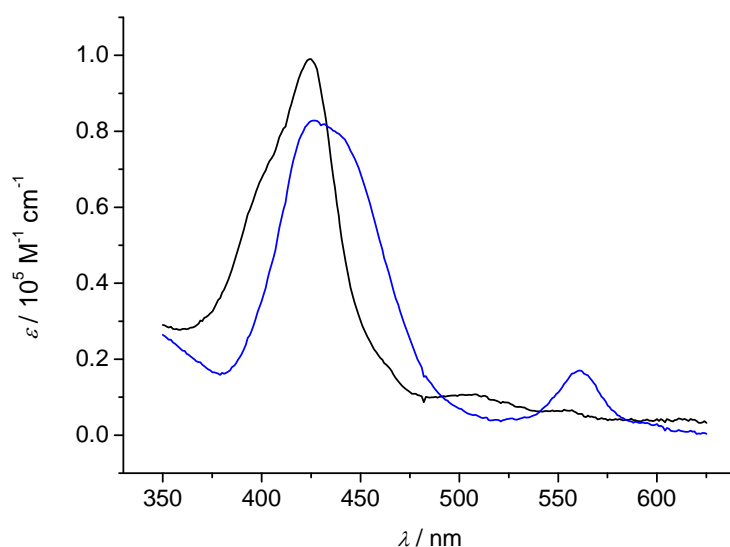
Slika 4.32. Spektralni eigenvektori 1-2 dobiveni faktorskom analizom podataka titracije na slici 4.31.



Slika 4.33. Usporedba izmjerenih ($\lambda = 425\text{nm}$ (\circ), $\lambda = 561\text{ nm}$ (\circ)) i izračunanih (—) vrijednosti apsorbancije titracije na slici 4.31. S obzirom da su maksimumi apsorbancije protonirane i deprotonirane vrste bliski (425nm i 427 nm), odabrane vrijednosti λ su maksimum apsorbancije protonirane vrste i karakteristična Q vrpca deprotonirane vrste prema modelu (4.15).



Slika 4.34. Reziduali apsorbancije titracije na slici 4.31 nakon obrade podataka prema modelu (4.15).



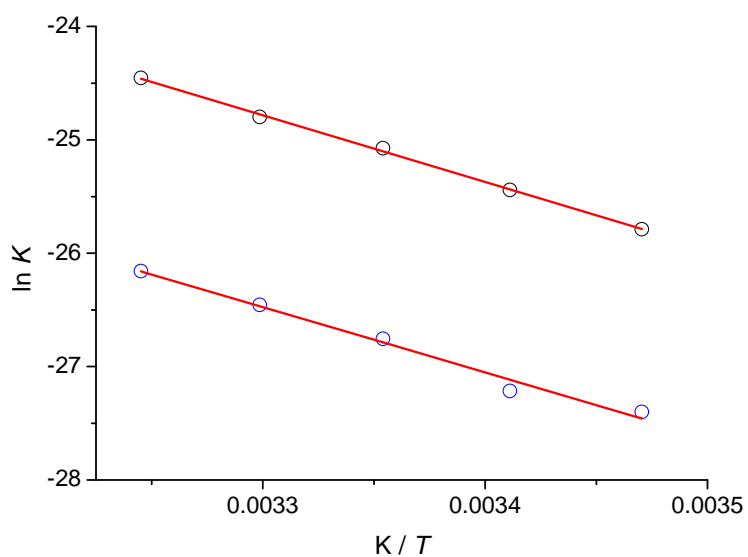
Slika 4.35. Teorijski spektri specija titracije na slici 4.31 dobiveni prema modelu (4.15): protonirana (—) i deprotonirana specija (—).

4.3.4. Određivanje termodinamičkih parametara disocijacije Mn(III)P i Mn(IV)P spektrofotometrijskim titracijama

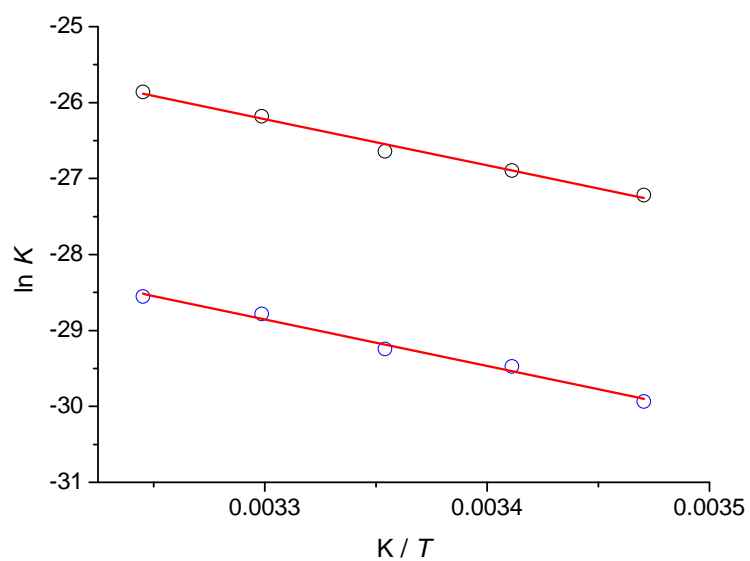
Termodinamički parametri disocijacije Mn(III)P i Mn(IV)P određeni su titracijama u rasponu temperatura od 15 do 35 °C. Promjena opaženih konstanata disocijacije prikazana je na tablici 4.1 i na slikama 4.36 do 4.38. Dobiveni su linearni van't Hoffovi dijagrami ($0,947 < R < 0,992$) iz čijih su koeficijenata smjera i odsječaka na ordinati računane reakcijske entalpije i entropije prema izrazu (3.29). Rezultati obrade podataka prikazani su u odjeljku 4.3.5.

Tablica 4.1. Konstante disocijacije *meso(ortho-* i *meta-N*-alkilpiridil) manganoporfirina dobivene spektrofotometrijskim titracijama u rasponu temperatura od 15 °C do 35 °C, $I = 2 \text{ M}$ (NaClO_4).

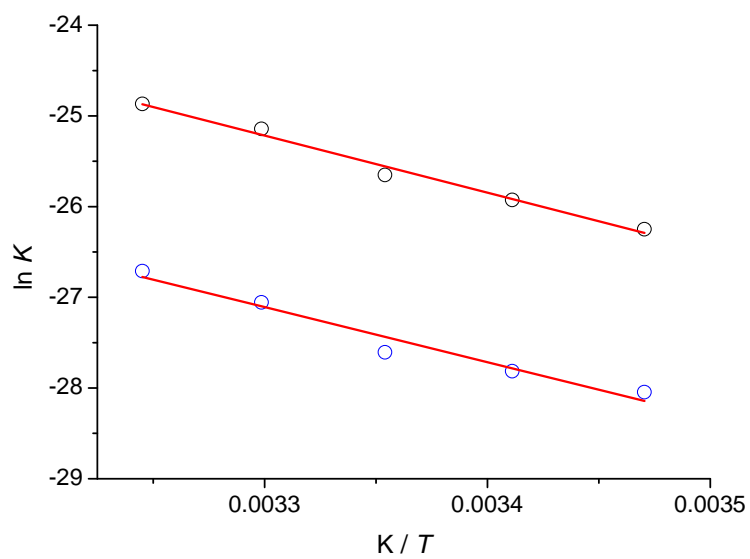
MnP	oksidacijsko stanje	$t / ^\circ\text{C}$	15	20	25	30	35
		konstanta					
MnTE-2-PyP	Mn(III)	pK_{a1}	11,20	11,05	10,89	10,77	10,62
		$\pm \sigma$	$\pm 0,02$	$\pm 0,01$	$\pm 0,01$	$\pm 0,03$	$\pm 0,03$
	Mn(IV)	pK_{a2}	11,90	11,82	11,62	11,49	11,36
		$\pm \sigma$	$\pm 0,04$	$\pm 0,03$	$\pm 0,02$	$\pm 0,03$	$\pm 0,03$
MnTE-3-PyP	Mn(III)	pK_{a1}	11,40	11,26	11,14	10,92	10,80
		$\pm \sigma$	$\pm 0,02$	$\pm 0,04$	$\pm 0,02$	$\pm 0,02$	$\pm 0,03$
	Mn(III)	pK_{a1}	11,82	11,68	11,57	11,37	11,23
		$\pm \sigma$	$\pm 0,02$	$\pm 0,04$	$\pm 0,03$	$\pm 0,05$	$\pm 0,03$
MnTE-3-PyP	Mn(III)	pK_{a2}	13,00	12,80	12,70	12,50	12,40
		$\pm \sigma$	$\pm 0,1$	$\pm 0,10$	$\pm 0,09$	$\pm 0,10$	$\pm 0,10$
	Mn(IV)	pK_{a1}	12,18	12,08	11,99	11,75	11,60
		$\pm \sigma$	$\pm 0,04$	$\pm 0,04$	$\pm 0,04$	$\pm 0,03$	$\pm 0,03$



Slika 4.36. Van't Hoffov dijagram disocijacije Mn(III)TE-2-PyP u 2 M NaClO_4 : K_{a1} (○) i K_{a2} (○). Konstante su definirane u odjeljku 4.3.1.1.



Slika 4.37. Van't Hoffov dijagram disocijacije Mn(III)TE-3-PyP u 2 M NaClO₄: K_{a1} (○) i K_{a2} (○). Konstante su definirane u odjeljku 4.3.1.2.



Slika 4.38. Van't Hoffov dijagram disocijacije Mn(IV)P u 2 M NaClO₄: Mn(IV)TE-2-PyP (○), Mn(IV)TE-3-PyP (○). Konstante su definirane u odjeljcima 4.3.3.1 i 4.3.3.2.

4.3.5. Ukupni rezultati određivanja konstanata disocijacije kompleksa MnTE-*m*-PyP (*m* = 2,3) spektrofotometrijskim titracijama

Ukupni rezultati spektrofotometrijskog određivanja konstanata disocijacije kompleksa MnTE-*m*-PyP (*m* = 2, 3) prikazanog u odjeljcima 4.3.1 do 4.3.4 prikazani su u tablicama 4.2 i 4.3. Tablica 4.2 sadrži pregled konstanata disocijacije i termodinamičkih parametara disocijacije kompleksa MnP, a tablica 4.3 prikazuje spektralne maksimume, λ_{\max} , pojedinih specija MnP i pripadajuće molarne koeficijente apsorbancije. Za specije (HO)Mn(II)TE-*m*-PyP³⁺ prikazane su karakteristike obiju opaženih apsorpcijskih vrhova u Soretovom području, dok je sekundaran maksimum opažen u Soretovom području za specije (H₂O)(HO)Mn(III)TE-*m*-PyP⁴⁺ označen simbolom (sh).

Tablica 4.2. Termodinamički parametri i konstante disocijacije *meso*(*ortho*- i *meta*-*N*-alkilpiridil) manganoporfirina dobiveni spektrofotometrijskim titracijama, *I* = 2 M (NaClO₄). Vrijednosti $\Delta_a H$ iskazane su u kJ mol⁻¹, a vrijednosti $\Delta_a S$ u J K⁻¹ mol⁻¹.

specija	pK_{a1} ± σ	$\Delta_{a1}H$ ± σ	$\Delta_{a1}S$ ± σ	pK_{a2} ± σ	$\Delta_{a2}H$ ± σ	$\Delta_{a2}S$ ± σ
Mn(II)TE-2-PyP	11,75 ± 0,01	-	-	-	-	-
Mn(II)TE-3-PyP	12,04 ± 0,03	-	-	-	-	-
Mn(III)TE-2-PyP	10,89 ± 0,01	49 ± 1	-44 ± 3	11,62 ± 0,02	48 ± 3	-62 ± 11
Mn(III)TE-3-PyP	11,57 ± 0,03	51 ± 3	-51 ± 9	12,70 ± 0,09	51 ± 3	-72 ± 11
Mn(IV)TE-2-PyP	11,14 ± 0,02	52 ± 3	-37 ± 11	-	-	-
Mn(IV)TE-3-PyP	11,99 ± 0,04	50 ± 6	-59 ± 19	-	-	-

Tablica 4.3. Spektralne karakteristike različitih specija kompleksa MnP dobivene spektrofotometrijskim titracijama pri 25 °C, *I* = 2 M (NaClO₄). Sekundarni maksimum u Soretovom području označen je simbolom (sh).

specija	$m = 2$		$m = 3$	
	λ_{\max}/nm	$\varepsilon/10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$	λ_{\max}/nm	$\varepsilon/10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$
$(\text{H}_2\text{O})\text{Mn(II)TE-}m\text{-PyP}^{4+}$	437	2,021	441	2,601
$(\text{HO})\text{Mn(II)TE-}m\text{-PyP}^{3+}$	407	0,702	408	0,795
	449	0,587	455	1,064
$(\text{H}_2\text{O})_2\text{Mn(III)TE-}m\text{-PyP}^{5+}$	455	1,384	462	1,549
$(\text{H}_2\text{O})(\text{HO})\text{Mn(III)TE-}m\text{-PyP}^{4+}$	435	0,766	440	0,923
	453 (sh)		456 (sh)	
$(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn(III)TE-}m\text{-PyP}^{3+}$	443	1,300	446	1,562
$(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn(IV)TE-}m\text{-PyP}^{4+}$	423	0,738	425	0,996
$(\text{O})(\text{HO})\text{Mn(IV)TE-}m\text{-PyP}^{3+}$	444	0,755	427	0,849

Udjeli pojedinih specija Mn(II)P, Mn(III)P i Mn(IV)P u ovisnosti o vrijednosti pH otopine prikazani su na slikama 4.39 do 4.44. Udjeli su označeni kao α_X , gdje X označava odgovarajuću speciju, a računani su prema izrazima (4.17) do (4.19) za specije Mn(III)P, te izrazima (4.20) i (4.21) za specije Mn(II)P i Mn(IV)P.⁶⁸

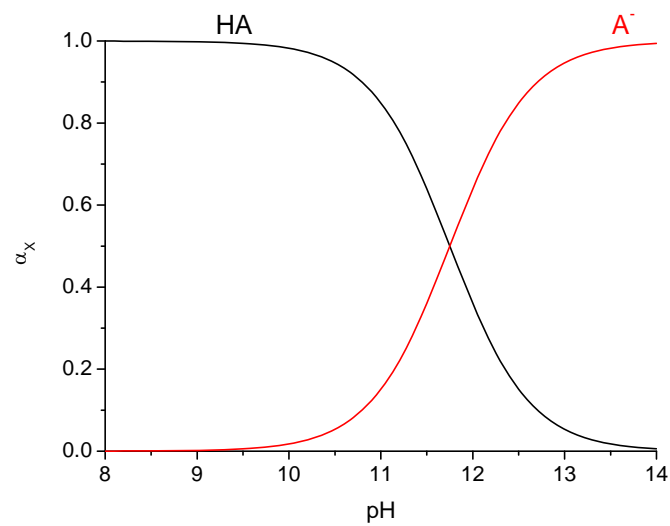
$$\alpha_{\text{H}_2\text{A}} = \frac{[\text{H}^+]^2}{[\text{H}^+]^2 + K_{\text{a1}}[\text{H}^+] + K_{\text{a1}}K_{\text{a2}}} \quad (4.17)$$

$$\alpha_{\text{HA}^-} = \frac{K_{\text{a1}}[\text{H}^+]}{[\text{H}^+]^2 + K_{\text{a1}}[\text{H}^+] + K_{\text{a1}}K_{\text{a2}}} \quad (4.18)$$

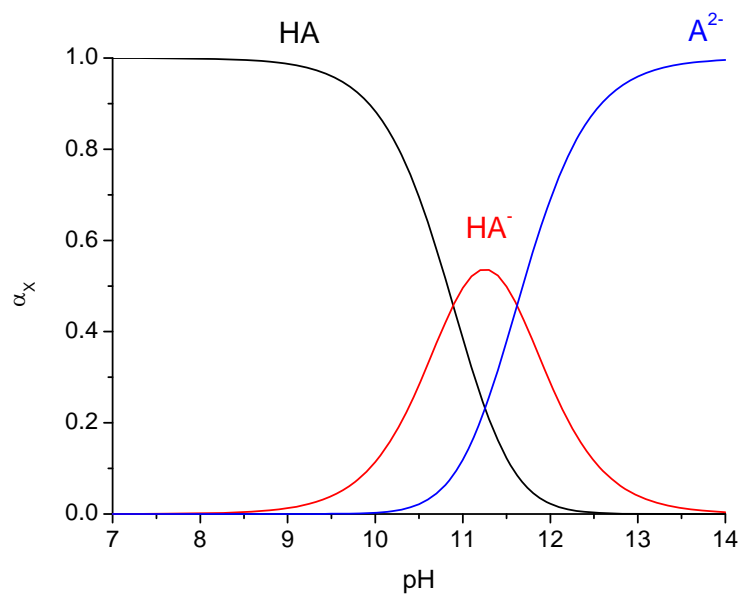
$$\alpha_{\text{A}^{2-}} = \frac{K_{\text{a1}}K_{\text{a2}}}{[\text{H}^+]^2 + K_{\text{a1}}[\text{H}^+] + K_{\text{a1}}K_{\text{a2}}} \quad (4.19)$$

$$\alpha_{\text{HA}} = \frac{[\text{H}^+]}{[\text{H}^+] + K_{\text{a1}}} \quad (4.20)$$

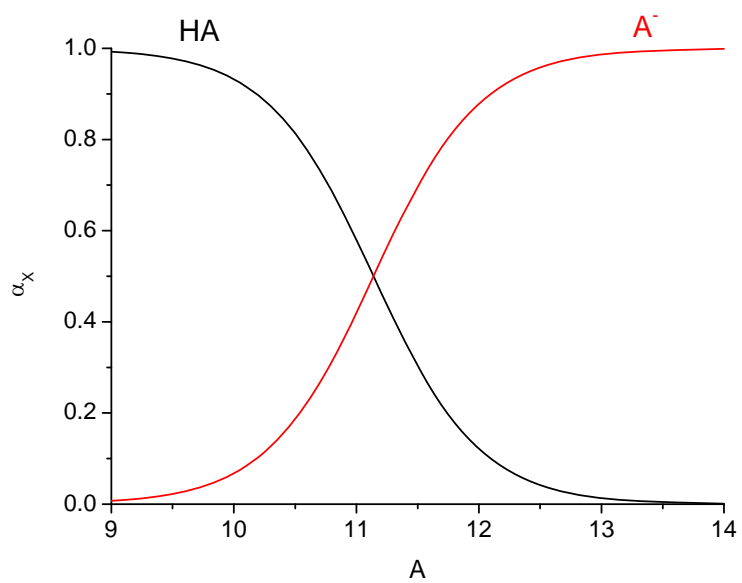
$$\alpha_{\text{HA}} = \frac{K_{\text{a1}}}{[\text{H}^+] + K_{\text{a1}}} \quad (4.21)$$



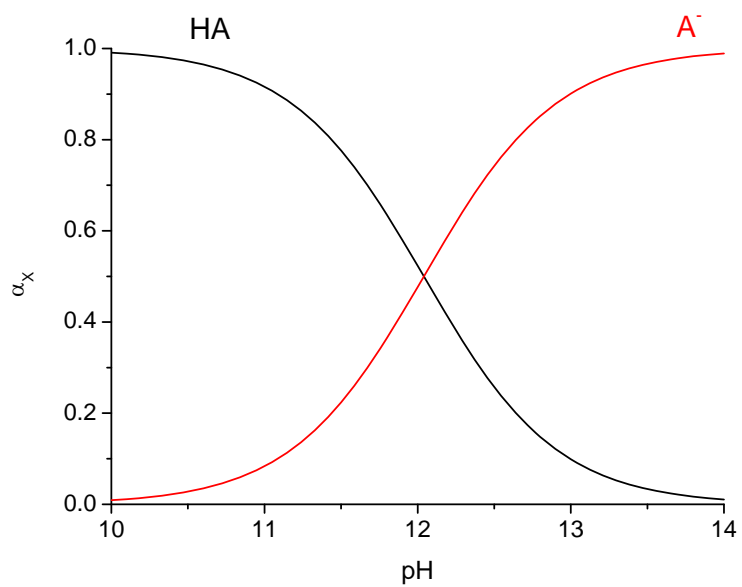
Slika 4.39. Udjeli pojedinih specija Mn(II)TE-2-PyP u ovisnosti o pH otopine.



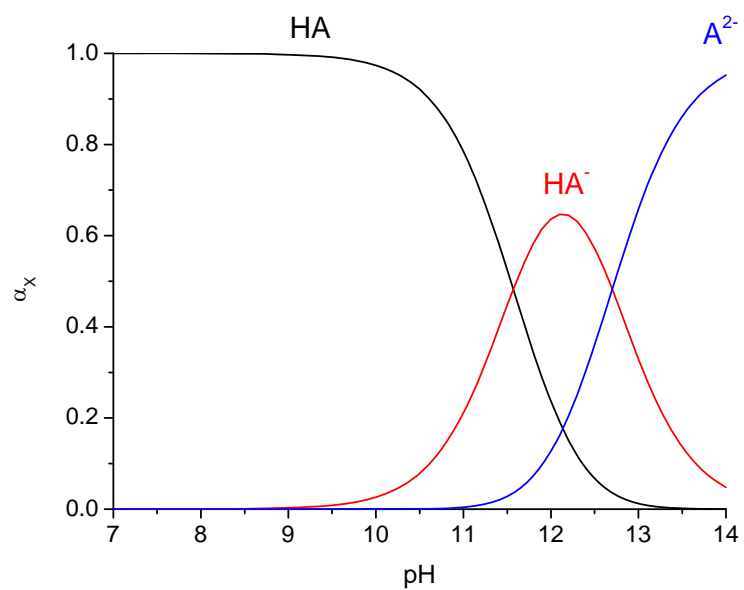
Slika 4.40. Udjeli pojedinih specija Mn(III)TE-2-PyP u ovisnosti o pH otopine.



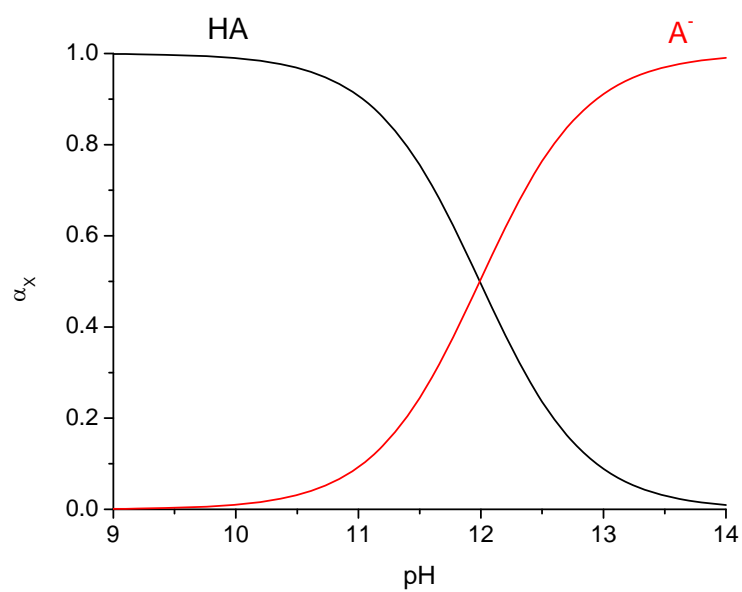
Slika 4.41. Udjeli pojedinih specija Mn(IV)TE-2-PyP u ovisnosti o pH otopine.



Slika 4.42. Udjeli pojedinih specija Mn(II)TE-3-PyP u ovisnosti o pH otopine.



Slika 4.43. Udjeli pojedinih specija Mn(III)TE-3-PyP u ovisnosti o pH otopine.



Slika 4.44. Udjeli pojedinih specija Mn(IV)TE-3-PyP u ovisnosti o pH otopine.

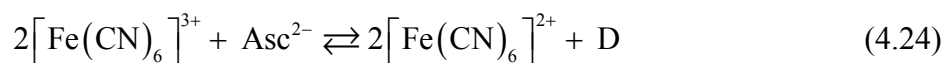
4.4. Elektrokemijska svojstva kompleksa MnTE-*m*-PyP (*m* = 2,3)

4.4.1. Redukcija Mn(III)P askorbinskom kiselinom

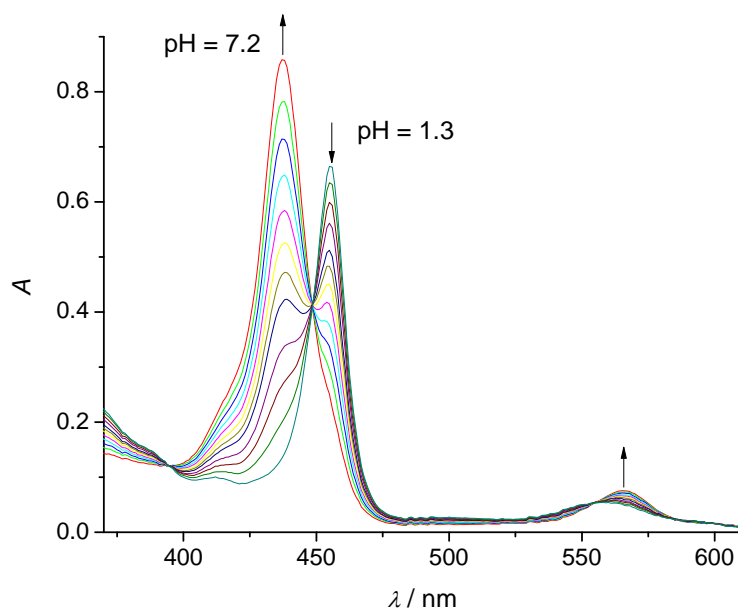
Formalni redukcijski potencijal redoks parova Mn(III)P/Mn(II)P određen je spektrofotometrijskim titracijama u prisutnosti askorbinske kiseline. Spektralni podaci pokazuju postupnu redukciju oba kompleksa uz postupni dodatak NaOH otopinama određenih početnih vrijednosti pH. Poznato je da se oksidacija askorbata, Asc²⁻, odvija u dva odvojena koraka prikazana jednačbama (4.22) i (4.23).⁶⁹ U prvom koraku nastaje slobodni radikal, anion Asc^{•-}, koji brzo disproporcionira na askorbatni anion i dehidroaskorbinsku kiselinu.



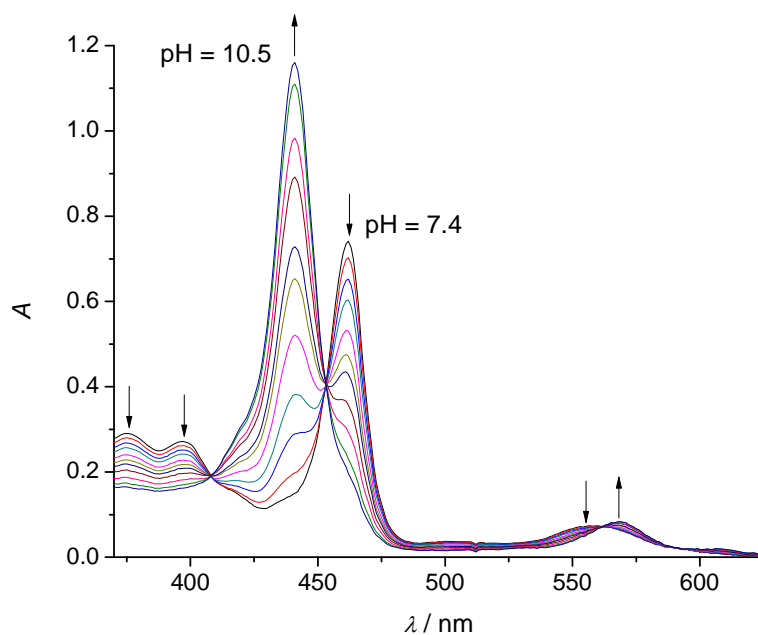
Dehidroaskorbinska kiselina se dalje transformira u konačne produkte relativno sporom, ali ireverzibilnom reakcijom.⁷⁰ Stoga su titracije izvedene snimanjem spektara odmah nakon miješanja reaktanata pri određenoj vrijednosti pH, čime je izbjegnuta ireverzibilna razgradnja dehidroaskorbinske kiseline i kompleksa Mn(II)P (odjeljak 4.4.7), odnosno zadovoljen uvjet „reverzibilnosti“ reakcije. U svim pokusima koncentracije askorbinske i dehidroaskorbinske kiseline održavane su stalnima dodatkom 0,5 mM fericijanata koji oksidira dio 20 mM askorbinske kiseline prema reakciji (4.24).



Konačne otopine sadržavale su 19,75 mM askorbat i 0,25 mM dehidroaskorbinsku kiselinu, obje u velikom suvišku prema 5 μM otopini odgovarajućeg MnP. Tipične spektralne promjene opisanih otopina MnTE-2-PyP i MnTE-3-PyP uzrokovane promjenom pH prikazane su na slikama 4.45 i 4.46.

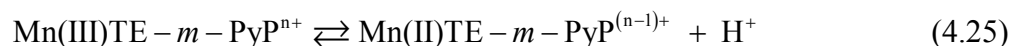


Slika 4.45. Tipična titracija 4,9 μM otopine Mn(III)TE-2-PyP u prisutnosti 20 mM askorbinske kiseline i 0,5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ u 2 M NaClO_4 standardnom 0,2 M otopinom NaOH ($t = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $l = 1\text{ cm}$). Vrijednost pH otopine je mijenjana od 1,3 do 7,2 (neki spektri nisu prikazani radi preglednosti). Spektri Mn(II)TE-2-PyP zabilježeni u području pH > 7,2 prikazani su na slici 4.15.



Slika 4.46. Tipična titracija 4 μM otopine Mn(III)TE-3-PyP u prisutnosti 20 mM askorbinske kiseline i 0,5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ u 2 M NaClO_4 standardnom 0,2 M otopinom NaOH ($t = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $l = 1\text{ cm}$). Vrijednost pH otopine je mijenjana od 7,4 do 10,5 (neki spektri nisu prikazani radi preglednosti). Spektri Mn(II)TE-3-PyP zabilježeni u području pH > 10,5 prikazani su na slici 4.21.

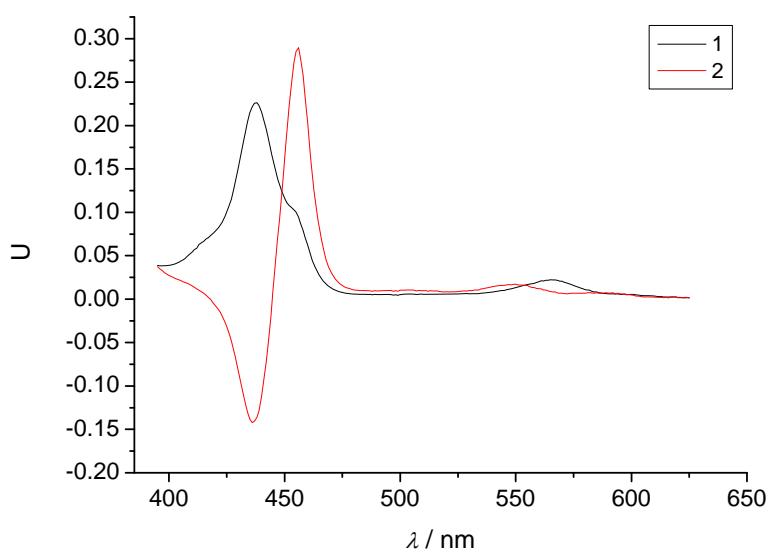
Faktorska analiza daje dvije relevantne apsorbirajuće specije povezane reakcijom (4.25) prema kojoj je izvedena konstanta ravnoteže K_{red} (4.26).



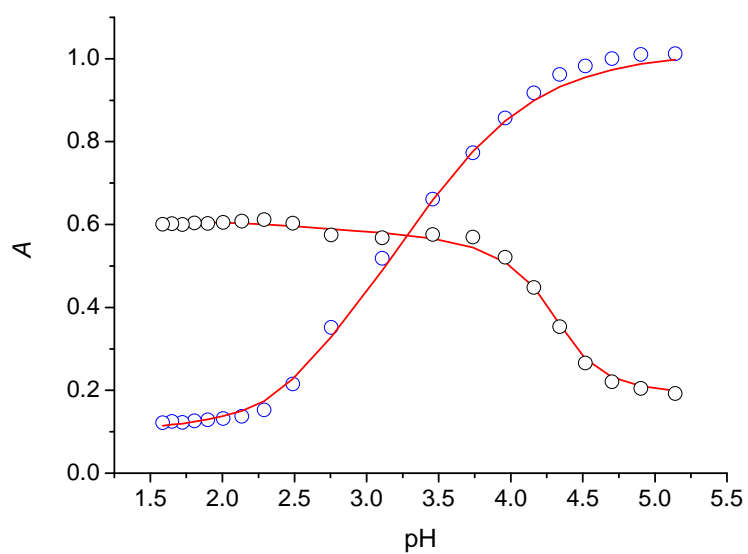
$$K_{\text{red}} = \frac{[\text{Mn(II)TE} - m - \text{PyP}^{(n-1)+}][\text{H}^+]}{[\text{Mn(III)TE} - m - \text{PyP}^{n+}]} \quad (4.26)$$

Podaci prikazani na slikama 4.45 i 4.46 obrađeni su prema izrazu (4.27), gdje su $A_{\text{Mn(II)P}}$ i $A_{\text{Mn(III)P}}$ apsorbancije protoniranih vrsta $\text{Mn(II)TE} - m - \text{PyP}$ i $\text{Mn(III)TE} - m - \text{PyP}$. Rezultati obrade podataka prikazani su na slikama 4.47 do 4.54.

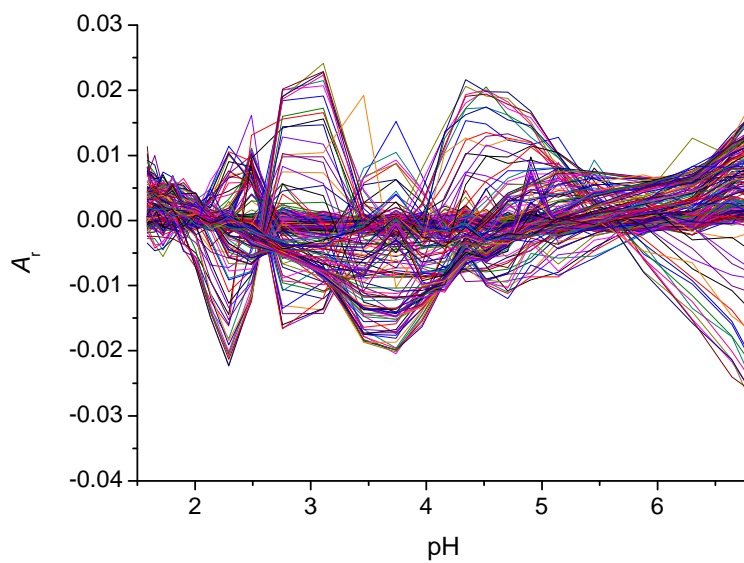
$$A = \frac{A_{\text{Mn(III)P}}[\text{H}^+] + A_{\text{Mn(II)P}}K_{\text{red}}}{[\text{H}^+] + K_{\text{red}}} \quad (4.27)$$



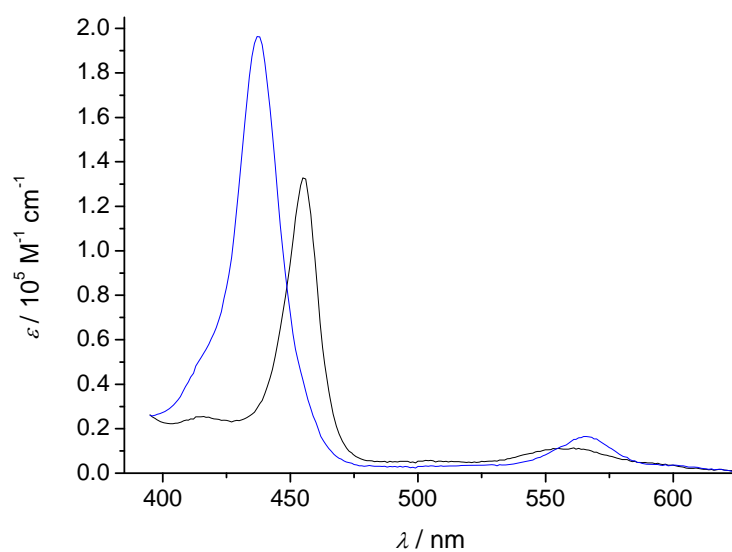
Slika 4.47. Spektralni eigenvektori 1-2 dobiveni faktorskom analizom podataka titracije na slici 4.45.



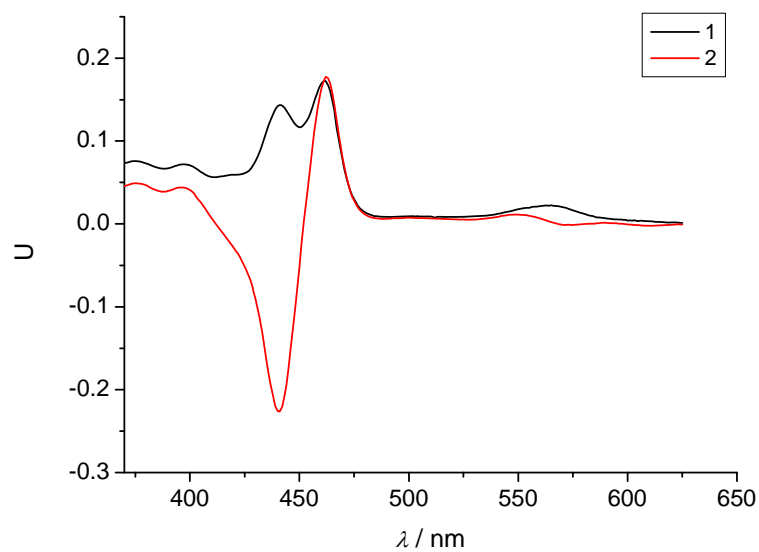
Slika 4.48. Usporedba izmjerenih ($\lambda = 455 \text{ nm}$ (\circ), $\lambda = 437 \text{ nm}$ (\circ)) i izračunanih (—) vrijednosti apsorbancije titracije na slici 4.45. Odabrane vrijednosti λ su maksimumi apsorbancije Mn(III)TE-2-PyP i Mn(II)TE-2-PyP vrste prema modelu (4.27).



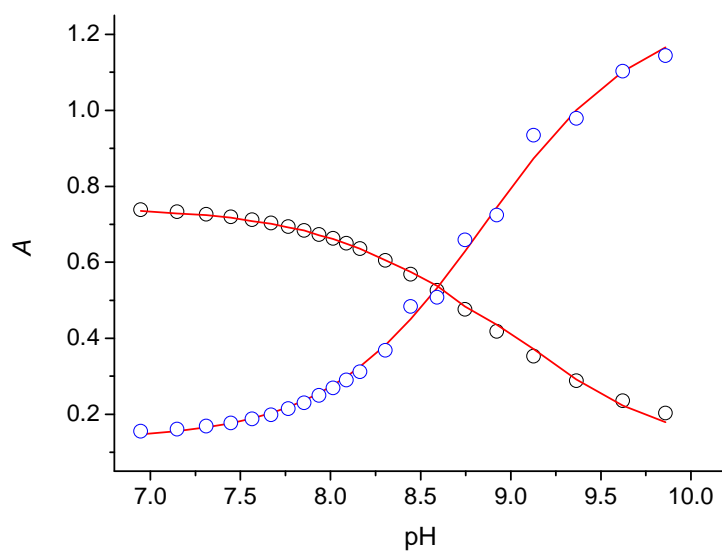
Slika 4.49. Reziduali apsorbancije titracije na slici 4.45 nakon obrade podataka prema modelu (4.27).



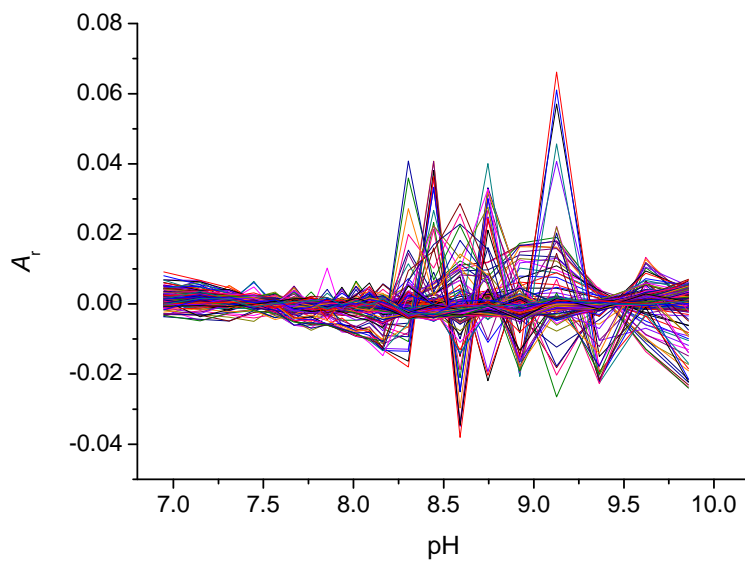
Slika 4.50. Teorijski spektri specija titracije na slici 4.45 dobiveni prema modelu (4.27): Mn(III)TE-2-PyP (—) i Mn(II)TE-2-PyP (—).



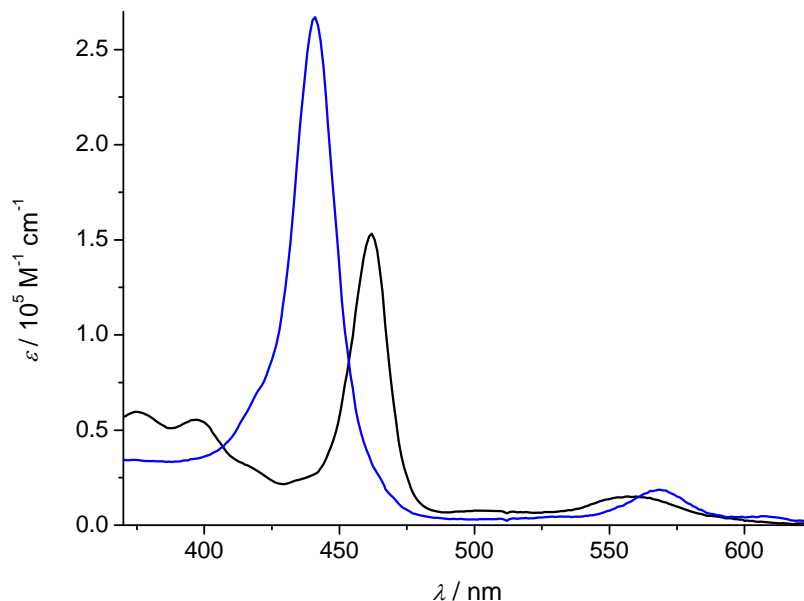
Slika 4.51. Spektralni eigenvektori 1-2 dobiveni faktorskom analizom titracije na slici 4.46.



Slika 4.52. Usporedba izmjerenih ($\lambda = 462$ nm (○), $\lambda = 441$ nm (◐)) i računanih (—) vrijednosti apsorbancije titracije na slici 4.46. Odabrane vrijednosti λ su maksimumi apsorbancije Mn(III)TE-3-PyP i Mn(II)TE-3-PyP vrste prema modelu (4.27).



Slika 4.53. Reziduali apsorbancije titracije na slici 4.46 nakon obrade podataka prema modelu (4.27).



Slika 4.54. Teorijski spektri specija titracije na slici 4.46 dobiveni prema modelu (4.27): Mn(III)TE-3-PyP (—) i Mn(II)TE-3-PyP (—).

U vodenim otopinama askorbinska kiselina može deprotonirati prema izrazima (4.28) i (4.29) u kojima su H_2Asc , HAsc^- i Asc^{2-} askorbinska kiselina, askorbatni monoanion i dianion.



Konstante ravnoteže za reakcije (4.28) i (4.29) definirane su izrazima (4.30) i (4.31).

$$K_{a1A} = \frac{[\text{HAsc}^-][\text{H}^+]}{[\text{H}_2\text{Asc}]} \quad (4.30)$$

$$K_{a2A} = \frac{[\text{Asc}^{2-}][\text{H}^+]}{[\text{HAsc}^-]} \quad (4.31)$$

Vrijednosti konstanta disocijacije $\text{p}K_{a1A} = 4,21 \pm 0,03$ i $\text{p}K_{a2A} = 11,13 \pm 0,05$ određene su potencijometrijskom titracijom 1 mM otopine u 2 M NaClO_4 pri 25 °C. Ove vrijednosti dobro odgovaraju konstantama određenima u 3 M NaClO_4 pri 25 °C ($\text{p}K_{a1A} = 4,37$ i $\text{p}K_{a2A} = 11,34$).⁷¹

Kombiniranjem izraza (4.22), (4.23), (4.30) i (4.31) moguće je izvesti Nernstovu jednadžbu za redukciju dehidroaskorbinske kiseline (4.32).

$$E_{D,2H^+/H_2Asc} = E_{D,2H^+/H_2Asc}^{0'} - \frac{RT}{\nu F} \ln \frac{[H_2Asc]}{[D][H^+]^2} \quad (4.32)$$

Uvrštenjem ukupnih koncentracija askorbinske i dehidroaskorbinske kiseline, $[Asc]_{tot}$ i $[D]_{tot}$, u izraz (4.32) dobiva se izraz (4.33).

$$E_{D,H^+/H_2Asc} = E_{D,H^+/H_2Asc}^{0'} - \frac{0,0591}{2} \log \frac{[Asc]_{tot}}{\left([H^+]^2 + [H^+]K_{a1A} + K_{a1A}K_{a2A}\right)[D]_{tot}} \quad (4.33)$$

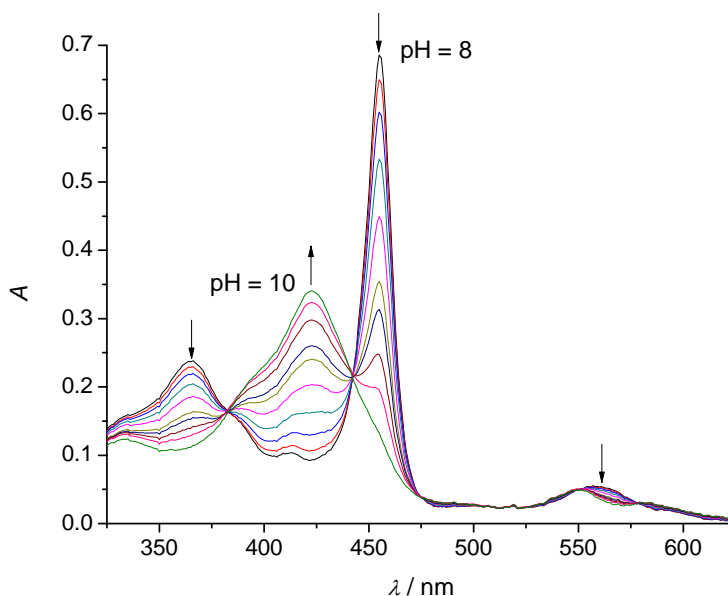
S obzirom da rezultati spektrofotometrijskih titracija obaju kompleksa Mn(III)P isključuju deprotonaciju u području $pH < 10$, a faktorska analiza upućuje na samo dvije relevantne apsorbirajuće specije, opažene spektralne promjene mogu se pripisati promjeni formalnog potencijala oksidacije askorbinske kiseline uslijed promjene pH vrijednosti otopine prema izrazu (4.33), zbog čega dolazi do promjene ravnotežnih koncentracija protoniranih vrsta Mn(III)P i Mn(II)P. Iz dobivenih vrijednosti $pK_{red.} = 3,21 \pm 0,02$ ($m = 2$) i $pK_{red.} = 8,84 \pm 0,04$ ($m = 3$) moguće je odrediti točke poluredukcije, odnosno vrijednosti $pH = pK_{red.}$ pri kojoj u otopinama postoji ekvimolarna smjesa reducirane i oksidirane vrste MnP ($[Mn(II)TE-m-PyP] / [Mn(III)TE-m-PyP] = 1$). Iz poznatog formalnog redukcijskog potencijala askorbinske kiseline, $E_{D,H^+/H_2Asc}^{0'} = +390 \text{ mV}$,⁷² određenih konstanata disocijacije askorbinske kiseline pK_{a1A} i pK_{a2A} i poznatih koncentracija $[Asc]_{tot} = 19,75 \text{ mM}$ i $[D]_{tot} = 0,25 \text{ mM}$ pri 25°C prema izrazu (4.33) moguće je računati formalni redukcijski potencijal protoniranih vrsta Mn(II)TE-*m*-PyP / Mn(III)TE-*m*-PyP, $E_1^{0'} = E_{D,H^+/H_2Asc}^{0'}$ pri $pH = pK_{red.}$. Uvrštavanjem vrijednosti $pH = pK_{red.}$ u izraz (4.33) izračunane su vrijednosti formalnih redukcijskih potencijala $E_1^{0'} = (+145 \pm 1) \text{ mV}$ ($m = 2$) i $E_1^{0'} = (-52 \pm 1) \text{ mV}$ ($m = 3$). Valja uočiti kako se teorijski spektri specija prikazani na slikama 4.50 i 4.54 dobro podudaraju sa teorijskim spektrima specija protoniranih vrsta Mn(III)P i Mn(II)P (slike 4.9, 4.14, 4.20 i 4.25).

4.4.2. Oksidacija Mn(III)P oktacijanomolibdatom(V)

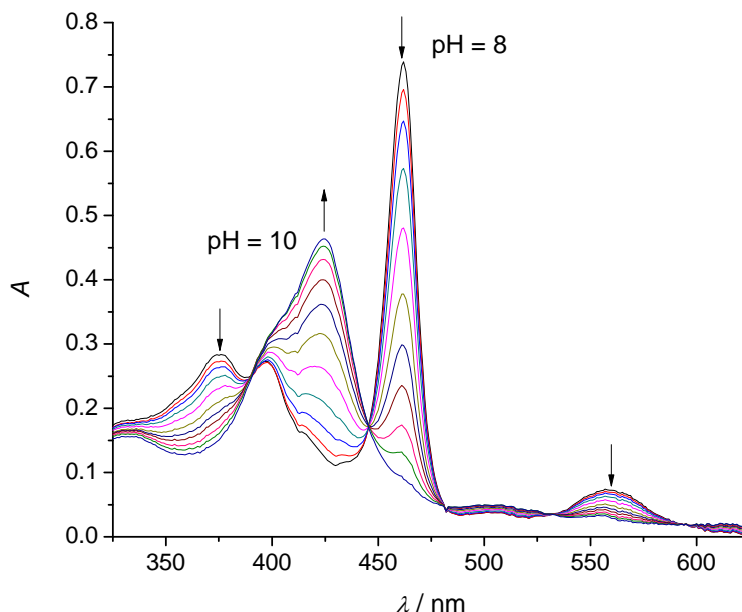
Pri vrijednostima $\text{pH} < 10$, u prisutnosti oktacijanomolibdata(V) kompleksi MnP u vodenim se otopinama pojavljuju kao smjese oksidacijskih stanja Mn(III) i Mn(IV). Reakcija Mn(III)P s oktacijanomolibdatom(V) je jednoelektronska oksidacija, prema izrazu (4.34).



Postupnim dodatkom standardne otopine NaOH neutralnoj otopini, u prisutnosti 0.1 mM $[\text{Mo}^{\text{V}}(\text{CN})_8]^{3-}$ dolazi do postupne oksidacije kompleksa Mn(III)P. Tipične spektralne promjene opažene promjenom pH opisanih otopina MnTE-2-PyP i MnTE-3-PyP u prisutnosti ekvimolarne smjese oktacijanomolibdata(V)/(IV) prikazane su na slikama 4.55 i 4.56.

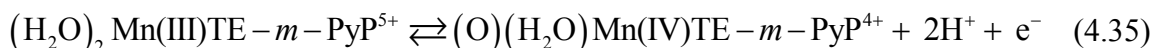


Slika 4.55. Tipična spektralna promjena 5 μM otopine Mn(III)TE-2-PyP u prisutnosti 0,1 mM $[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}$ i 0,1 mM $[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{4-}$ u 2 M NaClO_4 u titraciji standardnom 0,2 M otopinom NaOH ($t = 25^\circ\text{C}$, $l = 1\text{ cm}$). Vrijednost pH otopine mijenjana je od 8 do 10 (neki spektri nisu prikazani radi preglednosti). Spektri zabilježeni u području $\text{pH} > 10$ prikazani su na slici 4.26.



Slika 4.56. Tipična titracija 4,8 μM otopine Mn(III)TE-3-PyP u prisutnosti 0,1 mM $[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}$ i 0,1 mM $[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{4-}$ u 2 M NaClO_4 standardnom 0,2 M otopinom NaOH ($t = 25^\circ\text{C}$, $l = 1\text{ cm}$). Vrijednost pH otopine mijenjana je od 8 do 10 (neki spektri nisu prikazani radi preglednosti). Spektri zabilježeni u području pH > 10 prikazani su na slici 4.31.

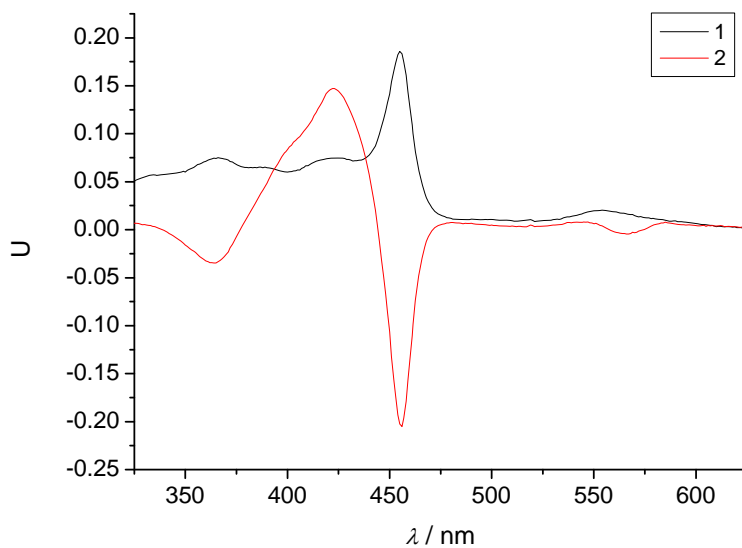
Faktorska analiza daje dvije relevantne apsorbirajuće specije povezane istovremenom disocijacijom dvaju protona. Formalni redukcijski potencijal oktacijanomolibdata, $E_{[\text{Mo}^{\text{V}}(\text{CN})_8]^{3-}/[\text{Mo}^{\text{IV}}(\text{CN})_8]^{4-}}^{0'} = +870\text{ mV}$, određen je cikličkom voltametrijom u 2 M NaClO_4 (odjeljak 4.4.3) i nije ovisan o pH u cjelokupnom promatranom području, te su spektralne promjene pripisane deprotonaciji kompleksa MnP. S obzirom da prethodni rezultati pokazuju da kompleksi Mn(III)TE-*m*-PyP samo neznatno disociraju u području pH < 10 (odjeljak 4.3.1), opažena promjena može se pripisati dvostrukoj deprotonaciji Mn(IV)P, prema polureakciji oksidacije (4.35) i izvedenoj konstanti ravnoteže K_{tit} (4.36).



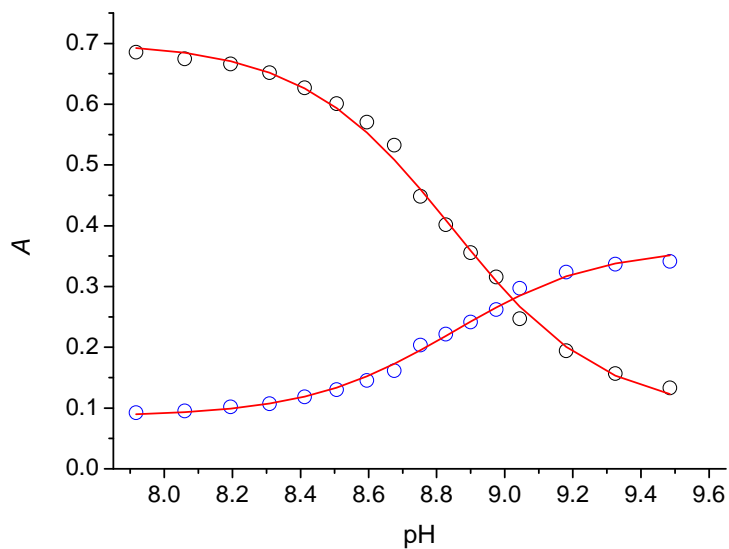
$$K_{\text{tit}} = \frac{[(\text{O})(\text{H}_2\text{O}) \text{Mn(IV)TE} - m - \text{PyP}^{4+}][\text{H}^+]^2}{[(\text{H}_2\text{O})_2 \text{Mn(III)TE} - m - \text{PyP}^{5+}]} \quad (4.36)$$

Podaci prikazani na slikama 4.55 i 4.56 obrađeni su prema izrazu (4.37), gdje su $A_{\text{Mn(III)P}}$ i $A_{\text{Mn(IV)P}}$ apsorbancije vrsta Mn(III)P i Mn(IV)P koje sudjeluju u reakciji. Rezultati obrade podataka prikazani su na slikama 4.57 do 4.64.

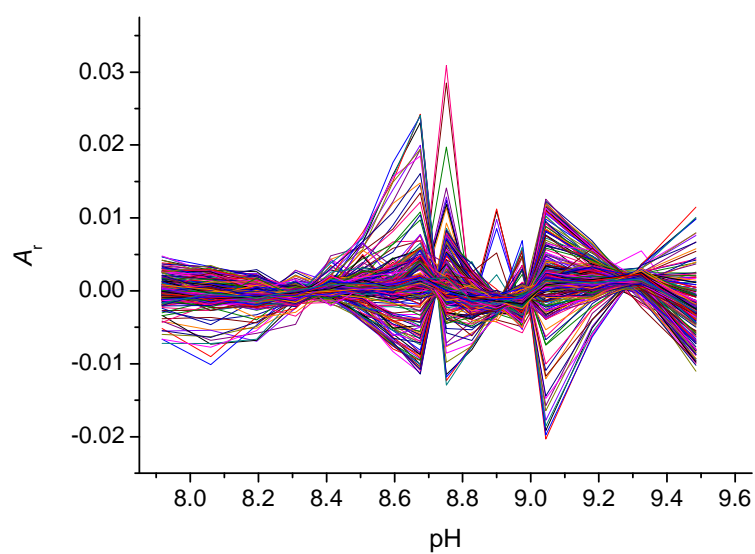
$$A = \frac{A_{\text{Mn(III)P}} [\text{H}^+]^2 + A_{\text{Mn(IV)P}} K_{\text{tit}}}{[\text{H}^+]^2 + K_{\text{oks}}} \quad (4.37)$$



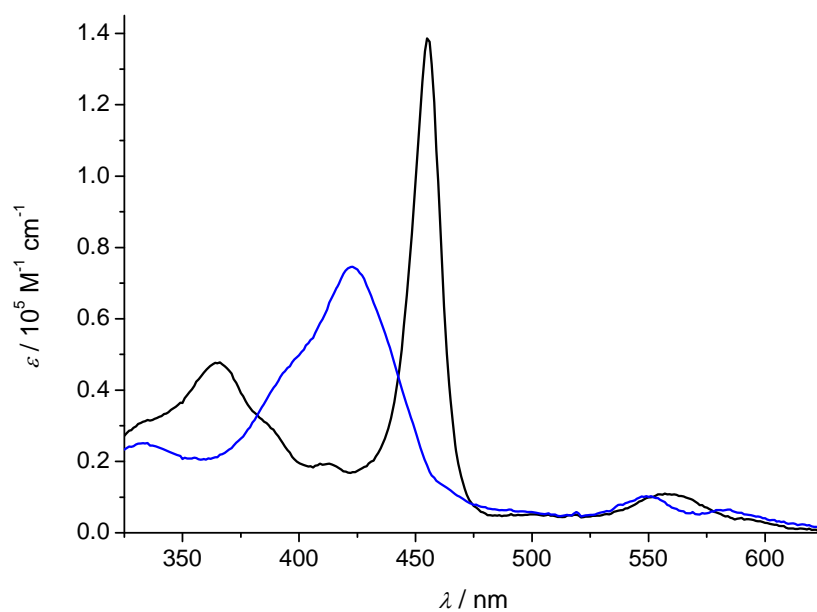
Slika 4.57. Spektralni eigenvektori 1-2 dobiveni faktorskom analizom titracije na slici 4.55.



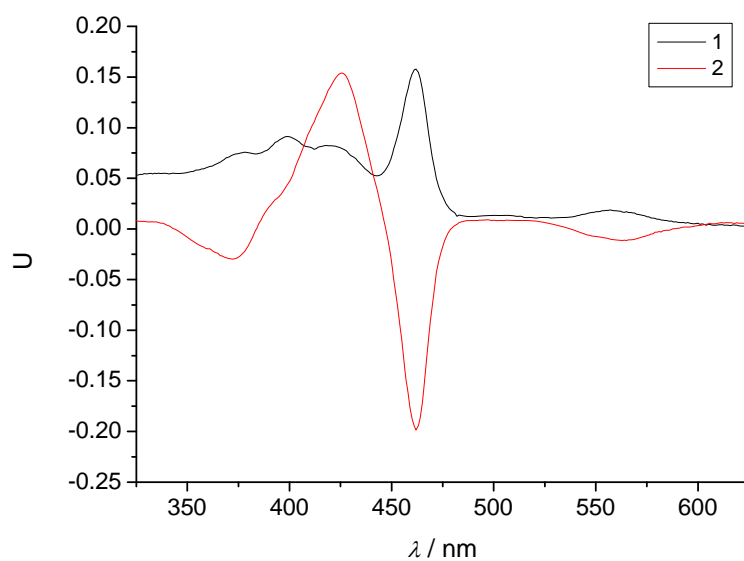
Slika 4.58. Usporedba izmjerenih ($\lambda = 455 \text{ nm}$ (\circ), $\lambda = 423 \text{ nm}$ (\circ)) i izračunanih (—) vrijednosti apsorbancije titracije na slici 4.55. Odabrane vrijednosti λ su maksimumi apsorbancije protonirane i deprotonirane vrste prema modelu (4.37).



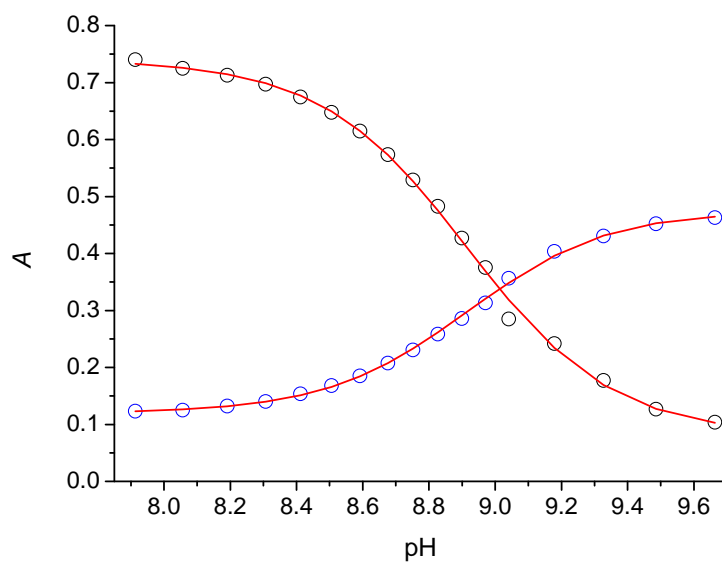
Slika 4.59. Reziduali apsorbancije titracije na slici 4.55 nakon obrade podataka prema modelu (4.37).



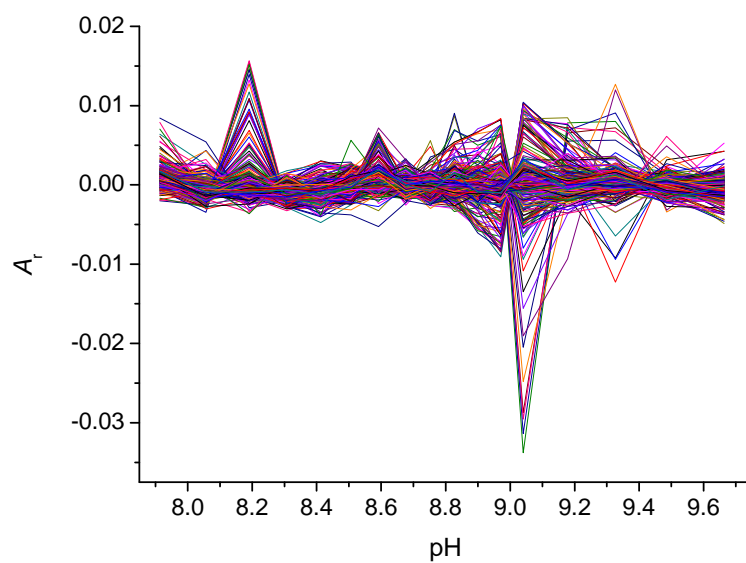
Slika 4.60. Teorijski spektri specija titracije na slici 4.60 dobiveni prema modelu (4.37): Mn(III)TE-2-PyP (—) i Mn(IV)TE-2-PyP (—).



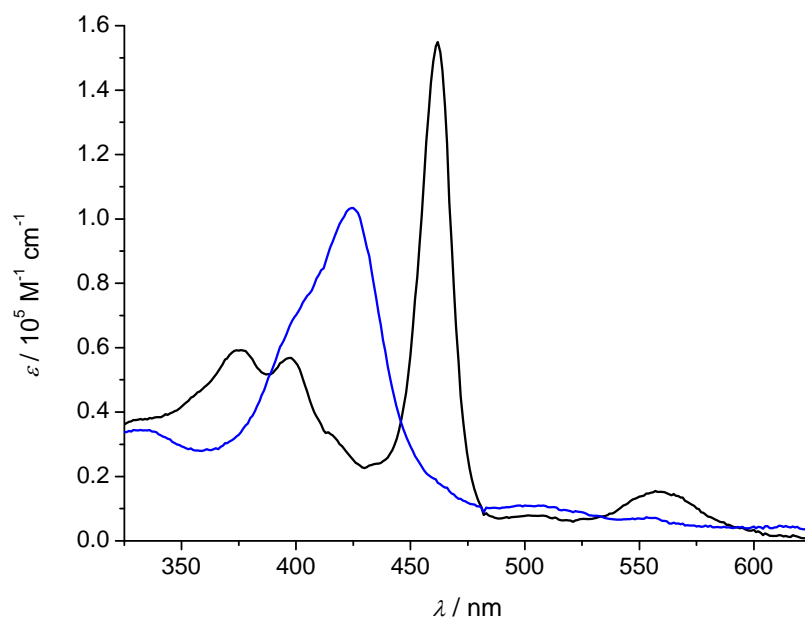
Slika 4.61. Spektralni eigenvektori 1-2 dobiveni faktorskom analizom titracije na slici 4.55.



Slika 4.62. Usporedba izmjerenih ($\lambda = 462$ nm (\circ), $\lambda = 425$ nm (\circ)) i izračunanih (—) vrijednosti apsorbancije titracije na slici 4.55. Odabrane vrijednosti λ su maksimumi apsorbancije protonirane i deprotonirane vrste prema modelu (4.37).



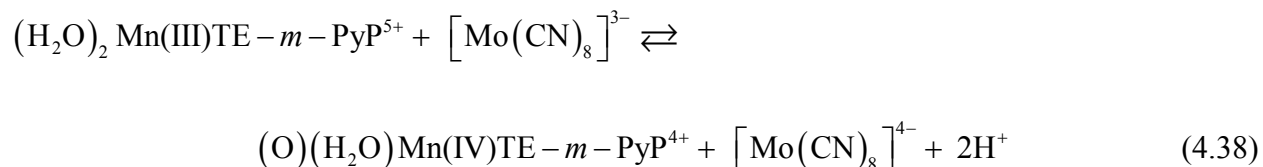
Slika 4.63. Reziduali apsorbancije titracije na slici 4.55 nakon obrade podataka prema modelu (4.37).



Slika 4.64. Teorijski spektri specija titracije na slici 4.55 dobiveni prema modelu (4.37): Mn(III)TE-3-PyP (—) i Mn(IV)TE-3-PyP (—).

Obradom podataka prema modelu (4.37) za komplekse MnTE-*m*-PyP dobivene su vrijednosti $pK_{\text{tit.}} = 17,71 \pm 0,02$ ($m = 2$) i $pK_{\text{tit.}} = 17,85 \pm 0,01$ ($m = 3$). Teorijski spektri relevantnih specija prikazani na slikama 4.60 i 4.64 dobro se podudaraju s teorijskim spektrima protoniranih vrsta Mn(III)P i Mn(IV)P na slikama 4.9, 4.14, 4.30 i 4.35.

Ukupna reakcija kompleksa Mn(III)TE-*m*-PyP u području pH < 10 prikazana je jednadžbom (4.38) i izvedenom konstantom ravnoteže $K_{\text{oks.}}$ (4.39).



$$K_{\text{oks}} = \frac{[(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn(IV)TE} - m - \text{PyP}^{4+}][[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{4-}][\text{H}^+]^2}{[(\text{H}_2\text{O})_2 \text{Mn(III)TE} - m - \text{PyP}^{5+}][[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}]} \quad (4.39)$$

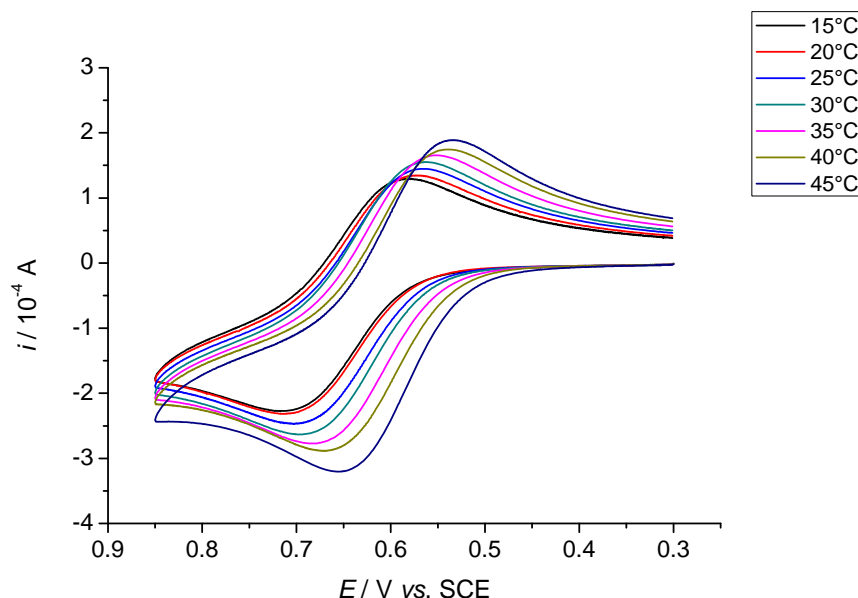
Koncentracije $[\text{Mo}^{\text{V}}(\text{CN})_8]^{3-}$ i $[\text{Mo}^{\text{IV}}(\text{CN})_8]^{4-}$ su u velikom suvišku prema koncentraciji MnP i praktički su jednake tijekom cijelog pokusa, te su vrijednosti $K_{\text{oks.}}$ numerički jednake računanim vrijednostima $K_{\text{tit.}}$. Iz dobivenih vrijednosti $K_{\text{tit.}} = K_{\text{oks.}}$ moguće je odrediti točke poluredukcije Mn(IV)P, odnosno vrijednosti pH = $pK_{\text{oks.}}/2$ pri kojoj u otopinama postoji ekvimolarna smjesa Mn(IV)P i Mn(III)P. Pri toj vrijednosti pH, potencijal redukcije Mn(IV)P prema povratnoj reakciji u izrazu (4.35), jednak je formalnom potencijalu oktacijanomolibdata, tj. $E_{\text{Mn(IV)P}, 2\text{H}^+/\text{Mn(III)P}} = E^0_{[\text{Mo}^{\text{V}}(\text{CN})_8]^{3-}/[\text{Mo}^{\text{IV}}(\text{CN})_8]^{4-}}$. Formalni potencijal redukcije Mn(IV)P pri 25 °C potom je moguće računati prema izrazu (4.40).

$$E^0_{\text{Mn(IV)P}, 2\text{H}^+/\text{Mn(III)P}} = E^0_{[\text{Mo}^{\text{V}}(\text{CN})_8]^{3-}/[\text{Mo}^{\text{IV}}(\text{CN})_8]^{4-}} + 0,059 \times pK_{\text{oks}} \quad (4.40)$$

Uvrštavanjem poznatih vrijednosti $K_{\text{oks.}}$ i $E^0_{[\text{Mo}^{\text{V}}(\text{CN})_8]^{3-}/[\text{Mo}^{\text{IV}}(\text{CN})_8]^{4-}}$ u izraz (4.40) izračunane su vrijednosti formalnog potencijala za redukciju $(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn(IV)TE} - m - \text{PyP}^{4+}$, $E^0_{\text{Mn(IV)P}, 2\text{H}^+/\text{Mn(III)P}} = (+1911 \pm 1) \text{ mV}$ ($m = 2$) i $E^0_{\text{Mn(IV)P}, 2\text{H}^+/\text{Mn(III)P}} = (+1916 \pm 1) \text{ mV}$ ($m = 3$).

4.4.3. Termodinamika oksidacije Mn(III)P oktacijanomolibdatom(V)

Termodinamički parametri oksidacije kompleksa Mn(III)P oktacijanomolibdatom(V) dobiveni su mjerenjem temperaturne ovisnosti $K_{\text{oks.}}$, definirane izrazom (4.39), u rasponu od 15 do 35 °C. Prije određivanja termodinamičkih parametara oksidacije Mn(III)P oktacijanomolibdatom, cikličkom voltametrijom je određena temperaturna ovisnost formalnog potencijala redukcije $[\text{Mo}^{\text{V}}(\text{CN})_8]^{3-} + e^- \rightleftharpoons [\text{Mo}^{\text{IV}}(\text{CN})_8]^{4-}$. Izmjereni ciklički voltamogrami 1 mM otopine $[\text{Mo}^{\text{IV}}(\text{CN})_8]^{4-}$ u 2 M NaClO_4 u rasponu temperatura od 15 do 45 °C prikazani su na slici 4.65. Karakteristične vrijednosti katodnog i anodnog strujnog vrha, E_{pc} i E_{pa} , dobivene su direktno upotrebom elektrokemijskog softvera CHI korištenog pri mjerenju, te su prema njima računane vrijednosti poluvalnog potencijala, $E_{1/2}$, prema izrazu (3.56).



Slika 4.65. Ciklički voltamogrami 1 mM otopine $[\text{Mo}^{\text{IV}}(\text{CN})_8]^{4-}$ u 2 M NaClO_4 u rasponu temperatura od 15 do 45 °C. Voltamogrami nisu korigirani za baznu liniju elektrolita.

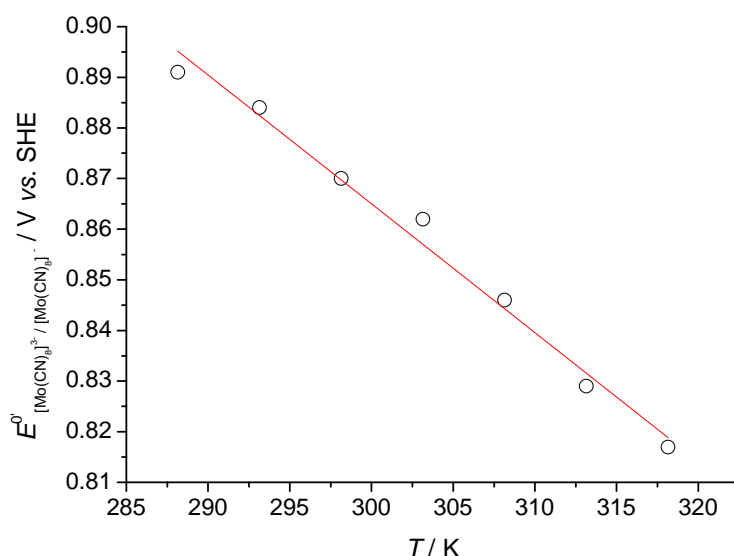
Poluvalni potencijal računan je prema zasićenoj kalomelovoj elektrodi (SCE) poznate temperaturne ovisnosti potencijala prema SHE, E_{SCE} .⁷³ Poluvalni potencijal i formalni potencijal povezani su izrazom (4.41),⁷⁴ gdje su D_{O} i D_{R} difuzijski koeficijenti oksidirane i reducirane vrste, odnosno $[\text{Mo}^{\text{V}}(\text{CN})_8]^{3-}$ i $[\text{Mo}^{\text{IV}}(\text{CN})_8]^{4-}$.

$$E_{1/2} = E^{0'} + \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{D_O}{D_R} \right)^{1/2} \quad (4.41)$$

S obzirom da nije vjerojatna značajna razlika difuzijskih koeficijenata reduciranog i oksidiranog oblika oktacijanomolibdata (odnosno vrijedi $D_O \approx D_R$ i $E_{1/2} \approx E^{0'}$), iz poznatih vrijednosti E_{SCE} i $E_{1/2[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{4-}/[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}}$, moguće je odrediti temperaturnu ovisnost $E^{0'}$ prema SHE. Rezultati dobiveni cikličkom voltametrijom otopine $[\text{Mo}^{\text{IV}}(\text{CN})_8]^{4-}$ prikazani su u tablici 4.44 i na slici 4.66.

Tablica 4.4. Temperaturna ovisnost formalnog potencijala za redukciju oktacijanomolibdata(V), $I = 2$ M (NaClO_4). $E^{0'}$ je izražen u V prema SHE.

$t / ^\circ\text{C}$	T / K	E_{pa} / V	E_{pc} / V	$E_{1/2} / \text{V}$	E_{SCE} / V	$E^{0'} / \text{V}$
15	288,15	0,717	0,580	0,649	0,242	0,891
20	293,15	0,717	0,574	0,646	0,239	0,884
25	298,15	0,703	0,566	0,635	0,235	0,870
30	303,15	0,697	0,563	0,630	0,232	0,862
35	308,15	0,684	0,552	0,618	0,228	0,846
40	313,15	0,671	0,538	0,605	0,225	0,829
45	318,15	0,655	0,536	0,596	0,221	0,817



Slika 4.66. Temperaturna ovisnost formalnog potencijala za redukciju oktacijanomolibdata(V), $[\text{Mo}^{\text{IV}}(\text{CN})_8]^{4-} = 1 \text{ mM}$, $I = 2 \text{ M}$ (NaClO_4).

Iz nagiba pravca ovisnosti $E^{0'}_{[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{4-}/[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}}$ o T moguće je izračunati $\Delta S^{0'}_{[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{4-}/[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}} = (-245 \pm 12) \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ prema izrazu (4.42), u kojem je $\Delta E^{0'}/\Delta T$ nagib pravca na slici 4.66, te potom $\Delta H^{0'}_{[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{4-}/[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}} = (-157 \pm 4) \text{ kJ mol}^{-1}$ prema izrazu (4.43).⁴³

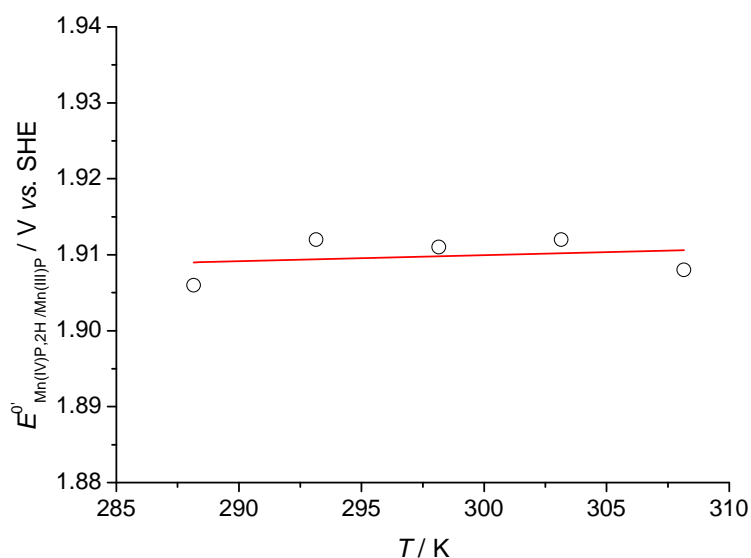
$$\Delta S^{0'} = nF \frac{\Delta E^{0'}}{\Delta T} \quad (4.42)$$

$$\Delta H^{0'} = -nFE^{0'} + T\Delta S^{0'} \quad (4.43)$$

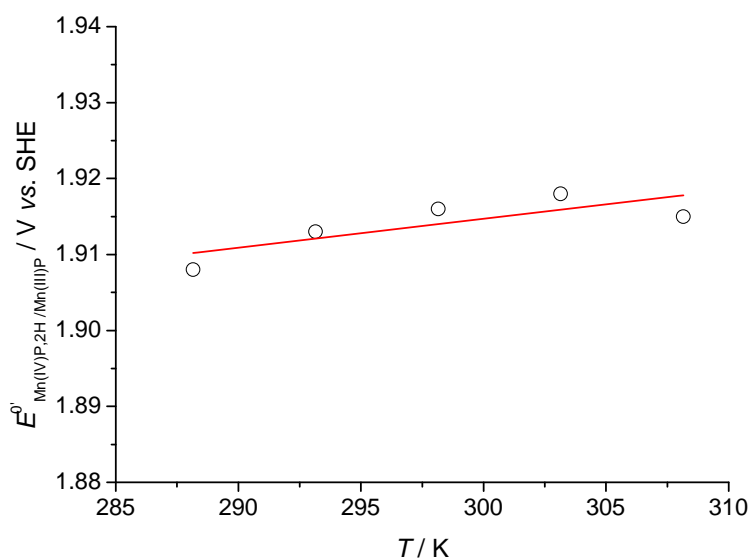
Naposljetku, iz poznatih vrijednosti $E^{0'}_{[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{4-}/[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}}$ i vrijednosti K_{oks} dobivenih titracijama nalik onima iz odjeljka 4.4.2 pri različitim temperaturama i koncentracijama $[\text{Mo}^{\text{V}}(\text{CN})_8]^{3-}$ i $[\text{Mo}^{\text{IV}}(\text{CN})_8]^{4-}$, moguće je prikazati temperaturnu ovisnost formalnog potencijala za redukciju Mn(IV)P , $E^{0'}_{\text{Mn(IV)P}, 2\text{H}^+/\text{Mn(III)P}}$, prema povratnoj reakciji iz izraza (4.35). Rezultati određivanja termodinamičkih parametara oksidacije kompleksa Mn(III)P oktacijanomolibdatom(V) prikazani su u tablici 4.5 i na slikama 4.67 i 4.68.

Tablica 4.5. Temperaturna ovisnost formalnog potencijala oksidacije kompleksa Mn(III)P oktacijano-molibdatom(V), $I = 2 \text{ M}$ (NaClO_4). Vrijednosti potencijala izražene su u voltima prema SHE.

MnP	$t / ^\circ\text{C}$	15	20	25	30	35
	parametar					
MnTE-2-PyP	$\text{p}K_{\text{oks}} \pm \sigma$	18,02 $\pm 0,01$	18,25 $\pm 0,01$	17,65 $\pm 0,02$	17,8 $\pm 0,01$	17,82 $\pm 0,01$
	$[[\text{Mo}^{\text{V}}(\text{CN})_8]^{3-}] / \text{mM}$	0,07	0,04	0,09	0,06	0,05
	$[[\text{Mo}^{\text{IV}}(\text{CN})_8]^{4-}] / \text{mM}$	0,13	0,15	0,10	0,13	0,14
	$E_{[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{4-}/[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}} / \text{V}$	0,876	0,851	0,867	0,841	0,819
	$E_{\text{Mn(IV)P,2H}^+/\text{Mn(III)P}}^{0'} / \text{V}$	1,906	1,912	1,911	1,912	1,908
MnTE-3-PyP	$\text{p}K_{\text{oks}} \pm \sigma$	18,21 $\pm 0,01$	17,50 $\pm 0,01$	17,85 $\pm 0,01$	17,96 $\pm 0,01$	17,96 $\pm 0,01$
	$[[\text{Mo}^{\text{V}}(\text{CN})_8]^{3-}] / \text{mM}$	0,05	0,12	0,08	0,05	0,05
	$[[\text{Mo}^{\text{IV}}(\text{CN})_8]^{4-}] / \text{mM}$	0,14	0,08	0,12	0,14	0,15
	$E_{[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{4-}/[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}} / \text{V}$	0,867	0,895	0,860	0,837	0,817
	$E_{\text{Mn(IV)P,2H}^+/\text{Mn(III)P}}^{0'} / \text{V}$	1,908	1,913	1,916	1,918	1,915



Slika 4.67. Temperaturna ovisnost formalnog potencijala $E_{\text{Mn(IV)P,2H}^+/\text{Mn(III)P}}^{0'}$, $I = 2 \text{ M}$ (NaClO_4), MnP \equiv MnTE-2-PyP.



Slika 4.68. Temperaturna ovisnost formalnog potencijala $E^0_{\text{Mn(IV)P,2H}^+/\text{Mn(III)P}}$, $I = 2 \text{ M (NaClO}_4\text{)}$, MnP \equiv MnTE-3-PyP.

Iz nagiba pravca ovisnosti $E^0_{\text{Mn(IV)P,2H}^+/\text{Mn(III)P}}$ o T moguće je izračunati $\Delta S^0_{\text{Mn(IV)P,2H}^+/\text{Mn(III)P}}$ prema izrazu (4.42), u kojem je $\Delta E^0/\Delta T$ nagib pravca na slikama 4.67 i 4.68, te potom $\Delta H^0_{\text{Mn(IV)P,2H}^+/\text{Mn(III)P}}$ prema izrazu (4.43). Rezultati su prikazani u tablici 4.6.

Tablica 4.6. Termodinamički parametri oksidacije Mn(III)P oktacijanomolibdatom(V), $I = 2 \text{ M (NaClO}_4\text{)}$. Vrijednosti su računate iz formalnih potencijala izraženih prema SHE.

MnP	$\Delta H^0 \pm \sigma / \text{kJ mol}^{-1}$	$\Delta S^0 \pm \sigma / \text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$
MnTE-2-PyP	-182 ± 5	8 ± 18
MnTE-3-PyP	-174 ± 5	37 ± 16

Nadalje, pomoću poznatih vrijednosti apsolutnog potencijala SHE,⁴⁴ $E^0_{2\text{H}^+/\text{H}_2}(\text{abs}) = (4,44 \pm 0,02) \text{ V}$ i apsolutne entropije standardne jednoelektronske redukcije H^+ ,⁷⁵ $\Delta_{\frac{1}{2}} S^*_{\text{H}^+/\text{H}_2} = 85,2 \text{ J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$, moguće je računati $E^0_{\text{Mn(IV)P,2H}^+/\text{Mn(III)P}}(\text{abs})$ prema izrazu (4.44) koji obuhvaća i temperaturnu korekciju apsolutnog potencijala.

$$E_{\text{Mn(IV)P,2H}^+/\text{Mn(III)P}}^{0'}(\text{abs}) = E_{\text{Mn(IV)P,2H}^+/\text{Mn(III)P}}^{0'} + 4,44 + (t - 25^\circ \text{C}) \frac{\Delta_1 S_{\text{H}^+/\text{H}_2}^*}{F} \quad (4.44)$$

Dobivene vrijednosti apsolutnog formalnog potencijala oksidacije kompleksa Mn(III)P oktacijanomolibdatom(V) prikazane su u tablici 4.7.

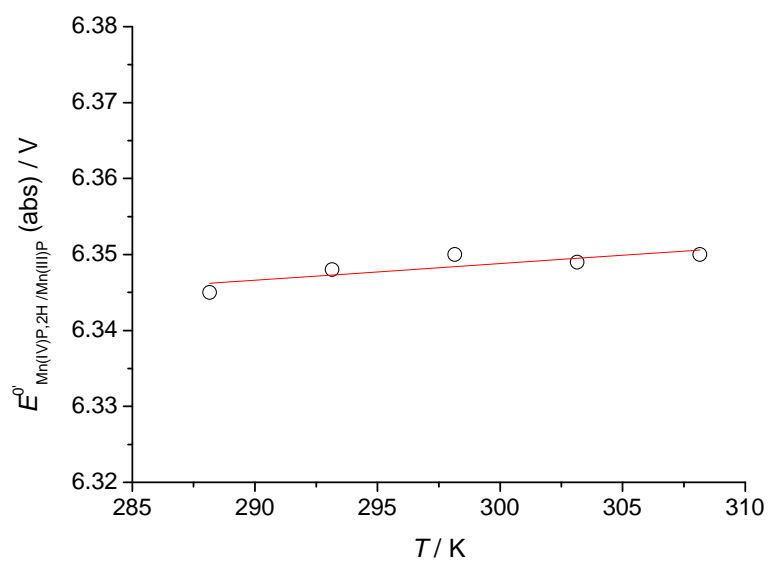
Iz nagiba pravca ovisnosti $E_{\text{Mn(IV)P,2H}^+/\text{Mn(III)P}}^{0'}(\text{abs})$ o T moguće je izračunati $\Delta S_{\text{Mn(IV)P,2H}^+/\text{Mn(III)P}}^{0'}(\text{abs})$ prema izrazu (4.42), u kojem je $\Delta E^0/\Delta T$ nagib pravca na slikama 4.69 i 4.70, te potom $\Delta H_{\text{Mn(IV)P,2H}^+/\text{Mn(III)P}}^{0'}(\text{abs})$ prema izrazu (4.43). Rezultati su prikazani u tablici 4.8.

Tablica 4.7. Apsolutni formalni potencijal oksidacije kompleksa Mn(III)P oktacijanomolibdatom(V), $I = 2 \text{ M}$ (NaClO_4).

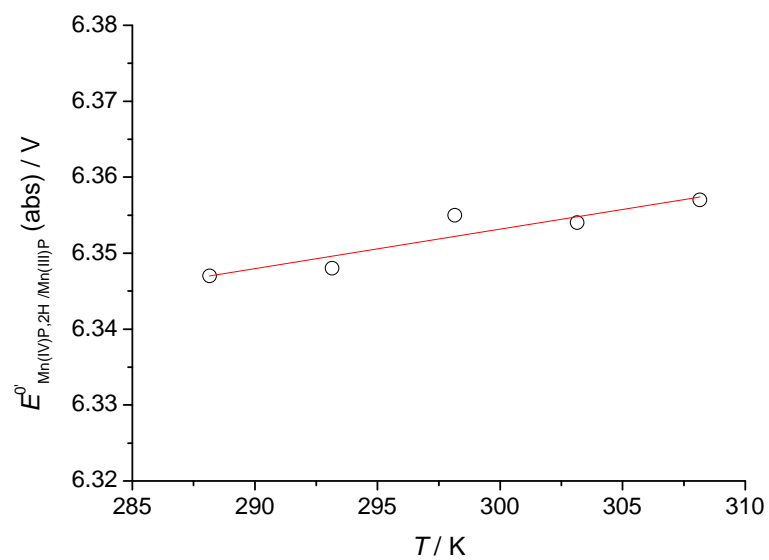
$t / ^\circ \text{C}$	$E_{\text{Mn(IV)P,2H}^+/\text{Mn(III)P}}^{0'}(\text{abs}) / \text{V}$	
	MnTE-2-PyP	MnTE-3-PyP
15	6,345	6,347
20	6,348	6,348
25	6,350	6,355
30	6,349	6,354
35	6,350	6,357

Tablica 4.8. Apsolutni termodinamički parametri oksidacije kompleksa Mn(III)P oktacijanomolibdatom(V), $I = 2 \text{ M}$ (NaClO_4). Vrijednosti su računane iz apsolutnih formalnih potencijala.

MnP	$\Delta H^{0'}(\text{abs}) \pm \sigma / \text{kJ mol}^{-1}$	$\Delta S^{0'}(\text{abs}) \pm \sigma / \text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$
MnTE-2-PyP	-606 ± 2	21 ± 7
MnTE-3-PyP	-598 ± 4	50 ± 12



Slika 4.69. Temperaturna ovisnost apsolutnog formalnog potencijala $E^0_{\text{Mn(IV)P,2H}^+/\text{Mn(III)P}} \text{ (abs)}$, $I = 2 \text{ M}$ (NaClO_4), $\text{MnP} \equiv \text{MnTE-2-PyP}$.



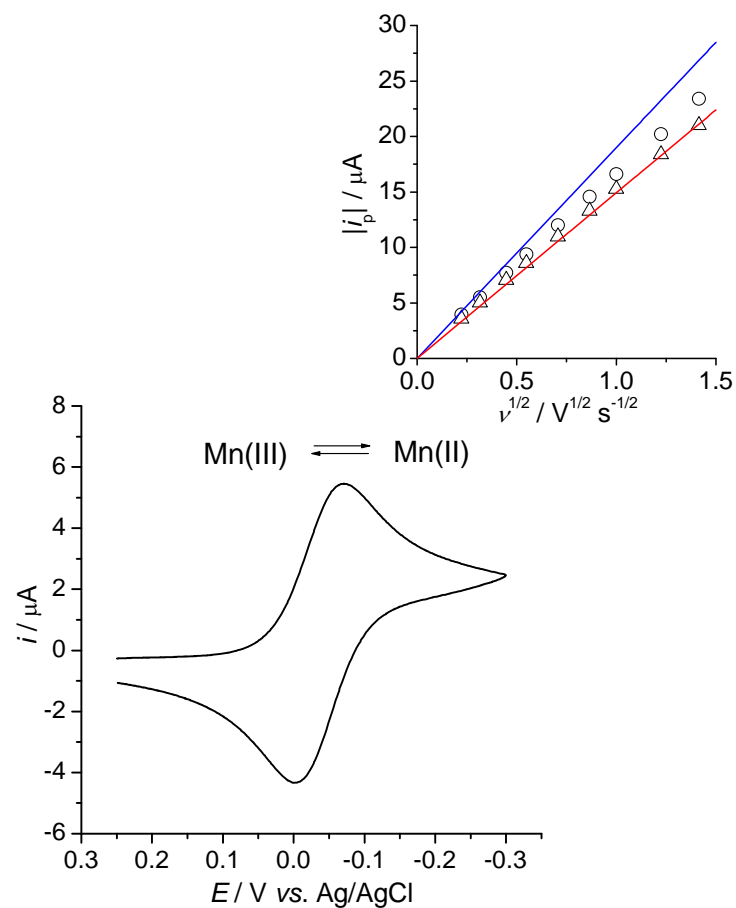
Slika 4.70. Temperaturna ovisnost apsolutnog formalnog potencijala $E^0_{\text{Mn(IV)P,2H}^+/\text{Mn(III)P}} \text{ (abs)}$, $I = 2 \text{ M}$ (NaClO_4), $\text{MnP} \equiv \text{MnTE-3-PyP}$.

4.4.4. Određivanje elektrokemijskih parametara redoks parova Mn(III)P/Mn(II)P i Mn(IV)P/Mn(III)P cikličkom voltametrijom

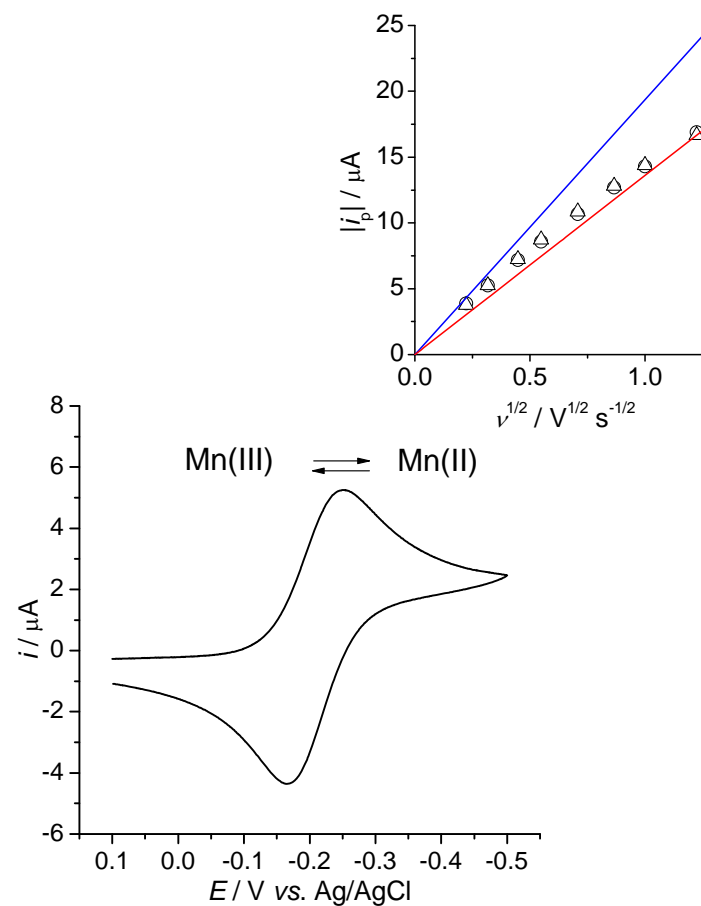
Elektrokemijskim istraživanjem svojstava vodene otopine kompleksa Mn(III)P pri različitim kiselostima i brzinama promjene potencijala v , dobiveni su ciklički voltamogrami na kojima je moguće uočiti dva elektronska prijelaza. Opaženi elektronski prijelazi mogu se pripisati redoks parovima središnjeg iona mangana Mn(III)/Mn(II) i Mn(IV)/Mn(III). U neutralnim i blago lužnatim otopinama, na cikličkim voltamogramima MnTE-2-PyP i MnTE-3-PyP je moguće uočiti samo jedan par strujnih vrhova, pripisan redoks prijelazu Mn(III)P/Mn(II)P (slike 4.71 i 4.72). U lužnatim otopinama ($\text{pH} > 10$), moguće je uočiti još jedan par strujnih vrhova pomaknut prema pozitivnijim potencijalima, pripisan redoks prijelazu Mn(IV)P/Mn(III)P (slike 4.73 i 4.74).

Ovisnost jakosti vršne struje, i_p , o $v^{1/2}$ (slike 4.71 do 4.74) jasno pokazuje odstupanje od vrijednosti dobivenih jednadžbom (3.55). Međusobna udaljenost potencijala katodnog i anodnog strujnog vrha, $\Delta E_p = |E_{pc} - E_{pa}|$, povećava se s porastom v , što također upućuje na zaključak da je riječ o kvazireverzibilnim elektronskim prijelazima. U tablicama 4.9 do 4.12. prikazani su parametri zabilježenih cikličkih voltamograma: E_{pc} , E_{pa} , i_{pc} , i_{pa} , $E_{1/2}$, ΔE_p , ψ , i k_{app}^0 . Vrijednosti kinetičkog parametra ψ , definiranog jednadžbom (3.59), dobivene su iz izmjerenih vrijednosti ΔE_p prema polinomnom modelu objavljene ovisnosti ΔE_p o $\log \psi$,⁵⁰ prikazane na slici 4.75.

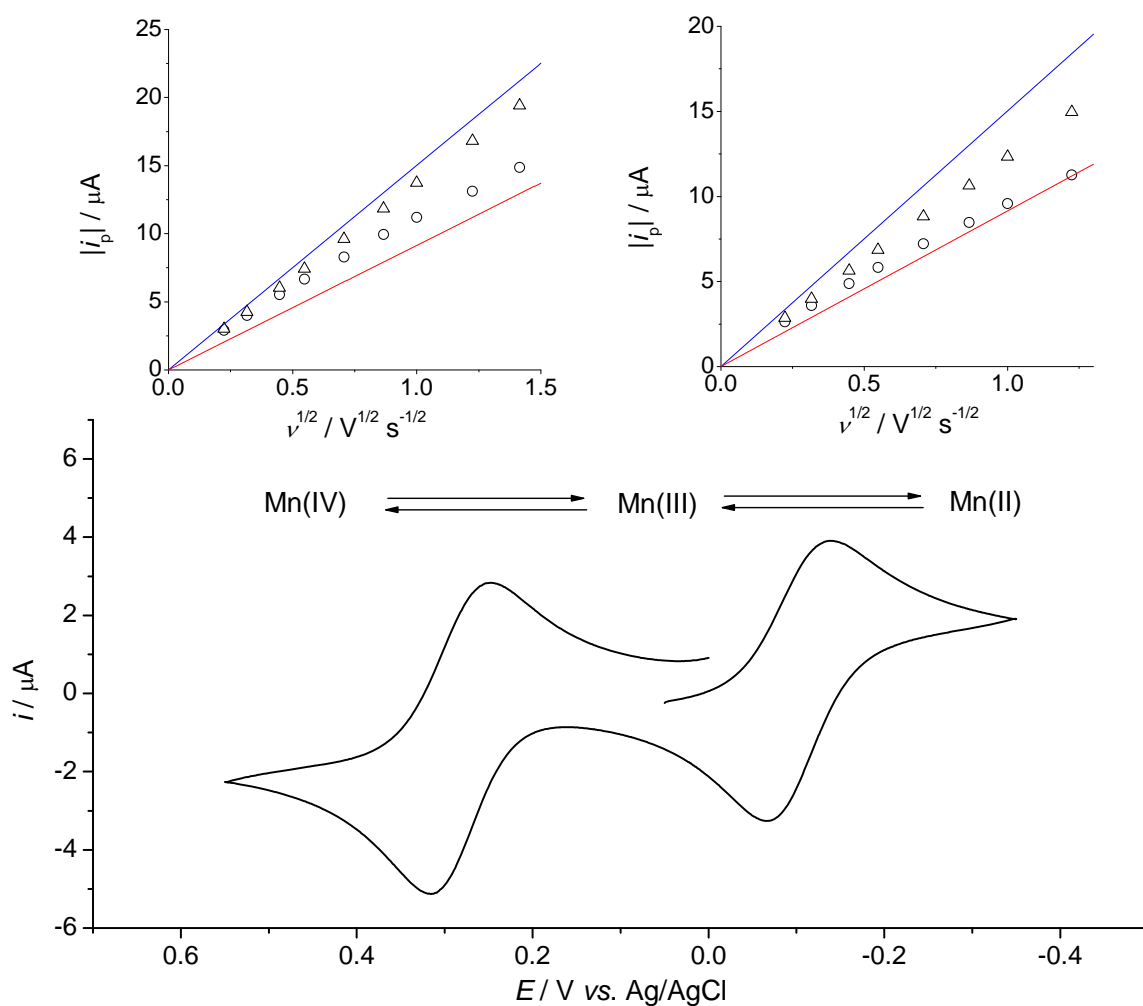
Dodatna analiza podataka dobivenih cikličkom voltametrijom načinjena je simulacijom krivulja u programu DigiElch. Rezultati elektrokemijskih simulacija prikazani su na slikama 4.76 do 4.89 i u tablicama 4.13 i 4.14.



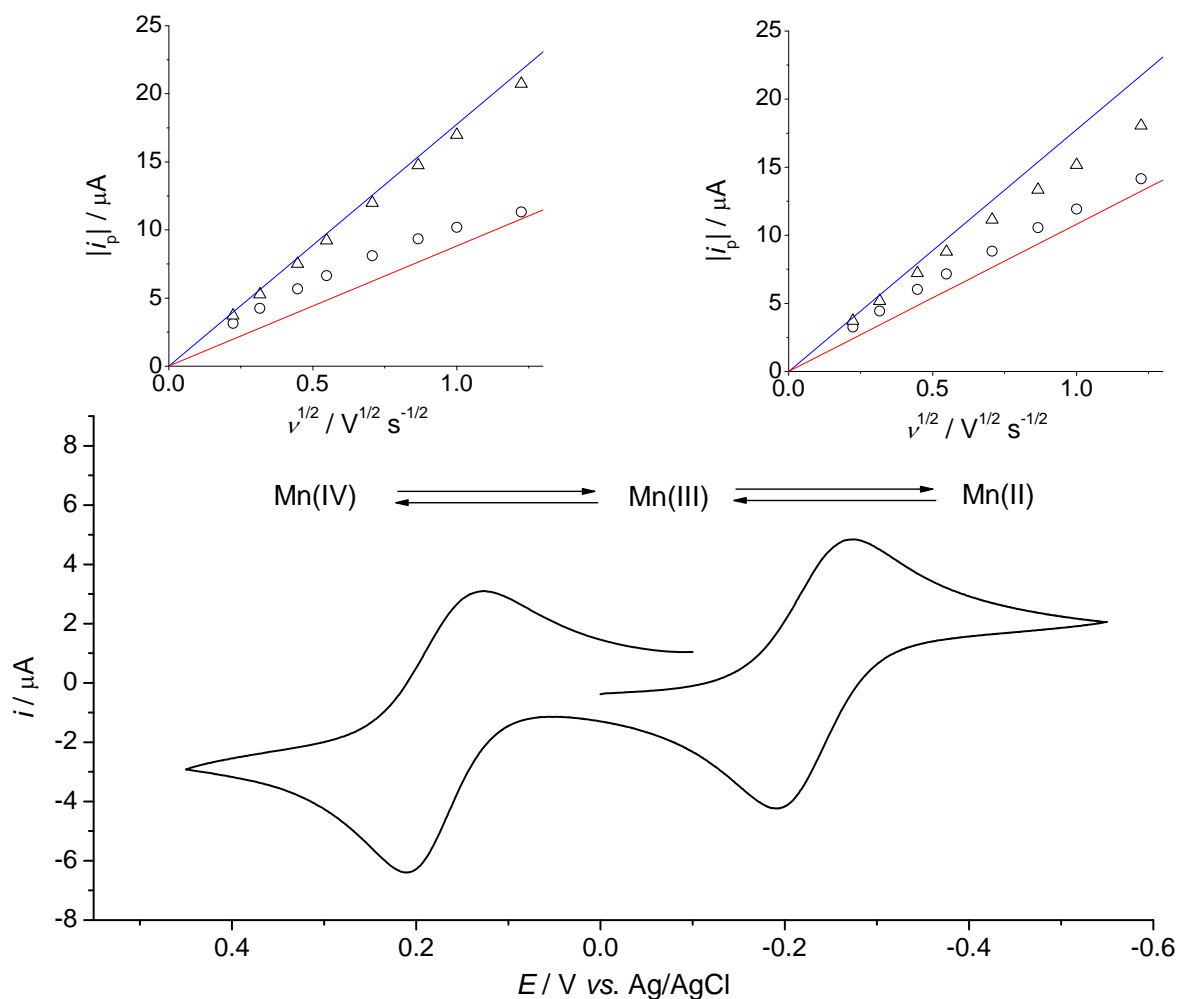
Slika 4.71. Ciklički voltamogram 0,65 mM otopine MnTE(III)-2-PyP, pH = 7,5, $[\text{NaH}_2\text{PO}_4] = 50 \text{ mM}$, $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$, $v = 0,1 \text{ V s}^{-1}$, $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$. Umetak: Ovisnost $|i_p|$ o $v^{1/2}$ za elektronski prijelaz Mn(III)/ Mn(II): i_{pc} (\circ), i_{pa} (Δ), Randles-Ševčíkova jednađba (3.55) za reverzibilni elektronski prijelaz (—), jednađba (3.58) za ireverzibilni elektronski prijelaz, $\alpha = 0,5$ (—).



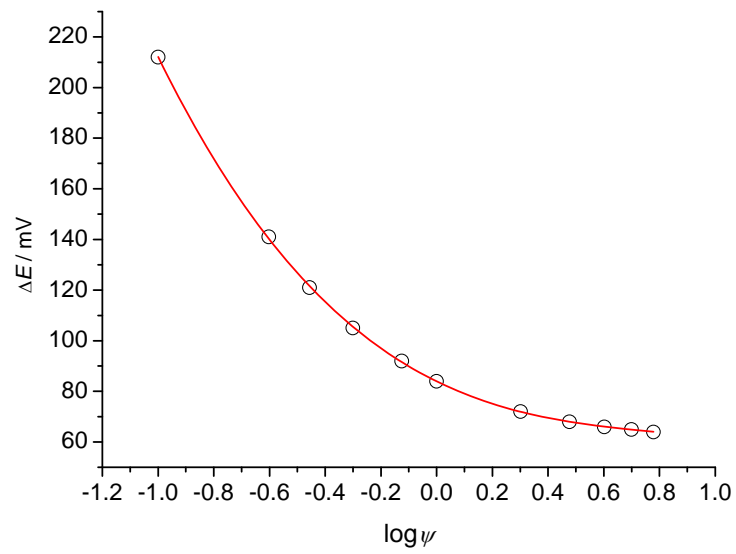
Slika 4.72. Ciklički voltamogram 0,52 mM otopine MnTE(III)-2-PyP, pH = 11,3, $[\text{CAPS}] = 50 \text{ mM}$, $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$, $v = 0,1 \text{ V s}^{-1}$, $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$. Umetak: Ovisnost $|i_p|$ o $v^{1/2}$ za elektronski prijelaz Mn(III)/ Mn(II): i_{pc} (\circ), i_{pa} (Δ), Randles-Ševčíkova jednađba (3.55) za reverzibilni elektronski prijelaz (—), jednađba (3.58) za ireverzibilni elektronski prijelaz, $\alpha = 0,4$ (—).



Slika 4.73. Ciklički voltamogram 0,65 mM otopine MnTE(III)-2-PyP, pH = 7,5, $[\text{NaH}_2\text{PO}_4] = 50 \text{ mM}$, $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$, $v = 0,1 \text{ V s}^{-1}$, $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$. Umetak lijevo: Ovisnost $|i_p|$ o $v^{1/2}$ za elektronski prijelaz $\text{Mn(IV)}/\text{Mn(III)}$: i_{pc} (\circ), i_{pa} (Δ), Randles-Ševčíkova jednađžba (3.55) za reverzibilni elektronski prijelaz (—), jednađžba za ireverzibilni elektronski prijelaz (3.58), $\alpha = 0,3$ (—). Umetak desno: Ovisnost $|i_p|$ o $v^{1/2}$ za elektronski prijelaz $\text{Mn(III)}/\text{Mn(II)}$: i_{pc} (\circ), i_{pa} (Δ), Randles-Ševčíkova jednađžba (3.55) za reverzibilni elektronski prijelaz (—), jednađžba (3.58) za ireverzibilni elektronski prijelaz, $\alpha = 0,3$ (—).



Slika 4.74. Ciklički voltamogram 0,52 mM otopine MnTE(III)-2-PyP, pH = 11,3, [CAPS] = 50 mM, [NaCl] = 0,1 M, $\nu = 0,1 \text{ V s}^{-1}$, $t = 25^\circ\text{C}$. Umetak lijevo: Ovisnost $|i_p|$ o $\nu^{1/2}$ za elektronski prijelaz Mn(IV)/ Mn(III): i_{pc} (\circ), i_{pa} (Δ), Randles-Ševčíkova jednađžba (3.55) za reverzibilni elektronski prijelaz (—), jednađžba za ireverzibilni elektronski prijelaz (3.58), $\alpha = 0,2$ (—). Umetak desno: Ovisnost $|i_p|$ o $\nu^{1/2}$ za elektronski prijelaz Mn(III)/ Mn(II): i_{pc} (\circ), i_{pa} (Δ), Randles-Ševčíkova jednađžba (3.55) za reverzibilni elektronski prijelaz (—), jednađžba (3.58) za ireverzibilni elektronski prijelaz, $\alpha = 0,3$ (—).



Slika 4.75. Ovisnost ΔE_p o $\log \psi$ (\circ) i polinomni model (—) prema jednadžbi $\Delta E_p = -21,358 (\log \psi)^3 + 52,932 (\log \psi)^2 - 53,849 \log \psi + 83,97$, $R^2 = 0,9999$.

Tablica 4.9. Elektrokemijski parametri elektronskog prijelaza Mn(III)/Mn(II) dobiveni cikličkom voltametrijom otopina MnTE-2-PyP.

otopina	$\nu / \text{V s}^{-1}$	$E_{\text{pc}} / \text{V vs. Ag/AgCl}$	$i_{\text{pc}} / \mu\text{A}$	$E_{\text{pa}} / \text{V vs. Ag/AgCl}$	$i_{\text{pa}} / \mu\text{A}$	$E_{1/2} / \text{V vs. Ag/AgCl}$	$\Delta E / \text{V}$	ψ	$k_{\text{app}}^0 / 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$	$i_{\text{pc}}/i_{\text{pa}}$
pH = 7,5 [MnP] = 0,65 mM	0,05	-0,070	3,94	-0,004	-3,58	-0,037	0,066	4,03	1,61	1,10
	0,10	-0,071	5,51	0,000	-5,01	-0,036	0,071	2,18	1,23	1,10
	0,20	-0,072	7,73	0,002	-7,04	-0,035	0,074	1,72	1,37	1,10
	0,30	-0,075	9,38	0,000	-8,59	-0,038	0,075	1,61	1,57	1,09
	0,50	-0,075	11,99	0,003	-10,96	-0,036	0,078	1,34	1,69	1,09
	0,75	-0,073	14,57	0,005	-13,29	-0,034	0,078	1,34	2,07	1,10
	1,00	-0,078	16,62	0,008	-15,25	-0,035	0,086	0,92	1,64	1,09
	1,50	-0,080	20,21	0,008	-18,37	-0,036	0,088	0,85	1,86	1,10
	2,00	-0,082	23,39	0,008	-21,01	-0,037	0,090	0,79	2,00	1,11
	3,00	-0,081	28,02	0,016	-25,12	-0,033	0,097	0,63	1,95	1,12
	5,00	-0,088	35,74	0,024	-30,59	-0,032	0,112	0,43	1,71	1,17
pH = 8,9 [MnP] = 0,65 mM	0,05	-0,066	3,91	0,000	-3,62	-0,033	0,066	4,03	1,61	1,08
	0,10	-0,070	5,53	0,001	-5,12	-0,035	0,071	2,18	1,23	1,08
	0,20	-0,069	7,76	0,002	-7,22	-0,034	0,071	2,18	1,74	1,07
	0,30	-0,072	9,48	0,002	-8,83	-0,035	0,074	1,72	1,68	1,07
	0,50	-0,072	12,12	0,006	-11,38	-0,033	0,078	1,34	1,69	1,07
	0,75	-0,072	14,87	0,008	-13,92	-0,032	0,080	1,20	1,86	1,07
	1,00	-0,071	17,12	0,008	-16,05	-0,032	0,079	1,27	2,26	1,07
	1,50	-0,075	20,86	0,011	-19,65	-0,032	0,086	0,92	2,01	1,06
	2,00	-0,078	24,17	0,012	-22,66	-0,033	0,090	0,79	2,00	1,07
	3,00	-0,078	29,49	0,017	-27,55	-0,031	0,095	0,67	2,07	1,07
	5,00	-0,079	37,58	0,021	-34,71	-0,029	0,100	0,58	2,31	1,08

pH = 10,0 [MnP] = 0,53 mM	0,05	-0,053	3,00	0,007	-3,02	-0,023	0,060	-	-	0,99
	0,10	-0,053	4,21	0,008	-4,29	-0,023	0,061	-	-	0,98
	0,20	-0,054	5,90	0,008	-6,12	-0,023	0,062	-	-	0,96
	0,30	-0,057	7,22	0,008	-7,52	-0,025	0,065	4,82	4,71	0,96
	0,50	-0,059	9,29	0,013	-9,81	-0,023	0,072	2,00	2,53	0,95
	0,75	-0,058	11,39	0,012	-12,17	-0,023	0,070	2,40	3,71	0,94
	1,00	-0,059	13,17	0,016	-14,13	-0,022	0,075	1,61	2,86	0,93
	1,50	-0,058	16,12	0,016	-17,48	-0,021	0,074	1,72	3,76	0,92
	2,00	-0,062	18,73	0,019	-20,50	-0,022	0,081	1,15	2,89	0,91
	3,00	-0,063	23,13	0,021	-25,13	-0,021	0,084	1,00	3,09	0,92
	5,00	-0,068	30,29	0,028	-32,75	-0,020	0,096	0,65	2,60	0,92
pH = 11,3 [MnP] = 0, 52 mM	0,05	-0,136	2,63	-0,068	-2,85	-0,102	0,068	3,01	1,20	0,92
	0,10	-0,137	3,59	-0,065	-3,98	-0,101	0,072	2,00	1,13	0,90
	0,20	-0,137	4,88	-0,065	-5,63	-0,101	0,072	2,00	1,60	0,87
	0,30	-0,141	5,83	-0,064	-6,85	-0,103	0,077	1,42	1,38	0,85
	0,50	-0,139	7,21	-0,057	-8,82	-0,098	0,082	1,09	1,38	0,82
	0,75	-0,140	8,48	-0,052	-10,64	-0,096	0,088	0,85	1,32	0,80
	1,00	-0,144	9,57	-0,054	-12,33	-0,099	0,090	0,79	1,41	0,78
	1,50	-0,142	11,27	-0,050	-14,97	-0,096	0,092	0,74	1,62	0,75
	2,00	-0,147	12,59	-0,048	-17,10	-0,098	0,099	0,60	1,50	0,74
	3,00	-0,147	14,75	-0,041	-20,59	-0,094	0,106	0,49	1,53	0,72
	5,00	-0,148	17,99	-0,032	-25,58	-0,090	0,116	0,39	1,56	0,70

pH = 12,1 [MnP] = 0,55 mM	0,05	-0,217	2,59	-0,135	-3,13	-0,176	0,082	1,09	0,44	0,83
	0,10	-0,223	3,43	-0,131	-4,36	-0,177	0,092	0,74	0,42	0,79
	0,20	-0,229	4,47	-0,129	-5,96	-0,179	0,100	0,58	0,46	0,75
	0,30	-0,229	5,17	-0,124	-7,14	-0,177	0,105	0,51	0,50	0,72
	0,50	-0,235	6,16	-0,119	-8,90	-0,177	0,116	0,39	0,49	0,69
	0,75	-0,239	7,01	-0,113	-10,53	-0,176	0,126	0,32	0,50	0,67
	1,00	-0,242	7,68	-0,108	-11,89	-0,175	0,134	0,28	0,49	0,65
	1,50	-0,246	8,63	-0,103	-13,95	-0,175	0,143	0,24	0,52	0,62
	2,00	-0,250	9,16	-0,098	-15,54	-0,174	0,152	0,21	0,52	0,59
	3,00	-0,257	9,58	-0,092	-17,91	-0,175	0,165	0,17	0,54	0,53
	5,00	-0,265	11,65	-0,080	-21,62	-0,173	0,185	0,13	0,54	0,54
pH = 13,0 [MnP] = 0,52 mM	0,05	-0,284	2,11	-0,172	-2,64	-0,228	0,112	0,43	0,17	0,80
	0,10	-0,290	2,75	-0,167	-3,55	-0,229	0,123	0,34	0,19	0,78
	0,20	-0,306	3,55	-0,157	-4,59	-0,232	0,149	0,22	0,17	0,77
	0,30	-0,309	4,06	-0,153	-5,29	-0,231	0,156	0,20	0,19	0,77
	0,50	-0,320	4,84	-0,144	-6,28	-0,232	0,176	0,15	0,19	0,77
	0,75	-0,327	5,03	-0,136	-7,08	-0,232	0,191	0,13	0,19	0,71
	1,00	-0,345	5,53	-0,128	-7,63	-0,237	0,217	0,10	0,17	0,73
	1,50	-0,360	6,33	-0,120	-8,51	-0,240	0,240	0,08	0,17	0,74
	2,00	-0,371	6,57	-0,113	-9,02	-0,242	0,258	0,07	0,16	0,73
	3,00	-0,371	7,05	-0,103	-9,74	-0,237	0,268	0,06	0,19	0,72
	5,00	-0,403	8,74	-0,080	-10,30	-0,242	0,323	0,04	0,16	0,85

Tablica 4.10. Elektrokemijski parametri elektronskog prijelaza Mn(IV)/Mn(III) dobiveni cikličkom voltametrijom otopina MnTE-2-PyP.

otopina	$\nu / \text{V s}^{-1}$	$E_{\text{pc}} / \text{V vs. Ag/AgCl}$	$i_{\text{pc}} / \mu\text{A}$	$E_{\text{pa}} / \text{V vs. Ag/AgCl}$	$i_{\text{pa}} / \mu\text{A}$	$E_{1/2} / \text{V vs. Ag/AgCl}$	$\Delta E / \text{V}$	ψ	$k_{\text{app}}^0 / 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$	$i_{\text{pc}}/i_{\text{pa}}$
pH = 10,0 [MnP] = 0,53 mM	0,05	0,343	2,58	0,438	-2,90	0,391	0,095	0,67	0,29	0,89
	0,10	0,341	3,44	0,445	-3,96	0,393	0,104	0,52	0,32	0,87
	0,20	0,338	4,51	0,455	-5,38	0,397	0,117	0,38	0,34	0,84
	0,30	0,333	5,18	0,464	-6,37	0,399	0,131	0,29	0,31	0,81
	0,50	0,331	6,09	0,473	-7,83	0,402	0,142	0,24	0,34	0,78
	0,75	0,326	6,73	0,479	-9,20	0,403	0,153	0,21	0,35	0,73
	1,00	0,322	7,22	0,489	-10,31	0,406	0,167	0,17	0,33	0,70
	1,50	0,321	7,69	0,498	-12,14	0,410	0,177	0,15	0,36	0,63
	2,00	0,313	7,88	0,509	-13,54	0,411	0,196	0,12	0,33	0,58
	3,00	0,307	7,49	0,526	-15,85	0,417	0,219	0,09	0,32	0,47
	5,00	0,299	6,61	0,549	-19,28	0,424	0,250	0,07	0,31	0,34
pH = 11,3 [MnP] = 0, 52 mM	0,05	0,248	2,90	0,316	-3,01	0,282	0,068	3,01	1,32	0,96
	0,10	0,248	4,00	0,316	-4,26	0,282	0,068	3,01	1,87	0,94
	0,20	0,247	5,52	0,319	-6,01	0,283	0,072	2,00	1,76	0,92
	0,30	0,249	6,65	0,32	-7,42	0,285	0,071	2,18	2,35	0,90
	0,50	0,241	8,28	0,323	-9,62	0,282	0,082	1,09	1,52	0,86
	0,75	0,244	9,94	0,325	-11,83	0,285	0,081	1,15	1,95	0,84
	1,00	0,244	11,21	0,326	-13,74	0,285	0,082	1,09	2,15	0,82
	1,50	0,238	13,12	0,328	-16,81	0,283	0,090	0,79	1,90	0,78
	2,00	0,239	14,87	0,332	-19,40	0,286	0,093	0,72	1,99	0,77
	3,00	0,237	17,33	0,34	-23,77	0,289	0,103	0,53	1,82	0,73
	5,00	0,235	20,59	0,348	-30,50	0,292	0,113	0,42	1,84	0,68

pH = 12,1 [MnP] = 0,55 mM	0,05	0,199	3,12	0,266	-3,28	0,233	0,067	3,45	1,51	0,95
	0,10	0,196	4,29	0,267	-4,63	0,232	0,071	2,18	1,36	0,93
	0,20	0,196	5,89	0,27	-6,52	0,233	0,074	1,72	1,51	0,90
	0,30	0,197	7,05	0,271	-7,98	0,234	0,074	1,72	1,85	0,88
	0,50	0,195	8,81	0,271	-10,29	0,233	0,076	1,51	2,09	0,86
	0,75	0,195	10,49	0,277	-12,62	0,236	0,082	1,09	1,86	0,83
	1,00	0,193	11,78	0,277	-14,52	0,235	0,084	1,00	1,96	0,81
	1,50	0,189	13,78	0,281	-17,66	0,235	0,092	0,74	1,78	0,78
	2,00	0,188	15,48	0,286	-20,40	0,237	0,098	0,61	1,70	0,76
	3,00	0,181	17,71	0,288	-24,90	0,235	0,107	0,48	1,64	0,71
	5,00	0,175	20,58	0,299	-31,48	0,237	0,124	0,33	1,46	0,65
pH = 13,0 [MnP] = 0,52 mM	0,05	0,148	2,76	0,22	-2,98	0,184	0,072	2,00	0,88	0,93
	0,10	0,146	3,75	0,224	-4,15	0,185	0,078	1,34	0,83	0,90
	0,20	0,142	5,09	0,224	-5,84	0,183	0,082	1,09	0,96	0,87
	0,30	0,142	6,04	0,227	-7,09	0,185	0,085	0,96	1,03	0,85
	0,50	0,140	7,46	0,233	-9,05	0,187	0,093	0,72	0,99	0,82
	0,75	0,139	8,77	0,232	-11,00	0,186	0,093	0,72	1,22	0,80
	1,00	0,136	9,78	0,233	-12,58	0,185	0,097	0,63	1,24	0,78
	1,50	0,132	11,22	0,236	-15,24	0,184	0,104	0,52	1,25	0,74
	2,00	0,128	12,44	0,242	-17,35	0,185	0,114	0,41	1,14	0,72
	3,00	0,123	13,82	0,244	-20,91	0,184	0,121	0,35	1,20	0,66
	5,00	0,120	15,99	0,256	-26,24	0,188	0,136	0,27	1,18	0,61

Tablica 4.11. Elektrokemijski parametri elektronskog prijelaza Mn(III)/Mn(II) dobiveni cikličkom voltametrijom otopina MnTE-3-PyP.

otopina	$\nu / \text{V s}^{-1}$	$E_{pc} / \text{V vs. Ag/AgCl}$	$i_{pc} / \mu\text{A}$	$E_{pa} / \text{V vs. Ag/AgCl}$	$i_{pa} / \mu\text{A}$	$E_{1/2} / \text{V vs. Ag/AgCl}$	$\Delta E / \text{V}$	ψ	$k_{app}^0 / 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$	i_{pc}/i_{pa}
pH = 7,5 [MnP] = 0,54 mM	0,05	-0,249	3,88	-0,170	-3,77	-0,210	0,079	1,27	0,67	1,03
	0,10	-0,251	5,26	-0,166	-5,24	-0,209	0,085	0,96	0,72	1,00
	0,20	-0,255	7,17	-0,160	-7,24	-0,208	0,095	0,67	0,71	0,99
	0,30	-0,257	8,58	-0,158	-8,72	-0,208	0,099	0,60	0,77	0,98
	0,50	-0,259	10,69	-0,152	-10,84	-0,206	0,107	0,48	0,81	0,99
	0,75	-0,265	12,68	-0,147	-12,81	-0,206	0,118	0,38	0,77	0,99
	1,00	-0,265	14,30	-0,145	-14,38	-0,205	0,120	0,36	0,86	0,99
	1,50	-0,270	16,90	-0,138	-16,65	-0,204	0,132	0,29	0,83	1,02
	2,00	-0,273	19,04	-0,134	-18,47	-0,204	0,139	0,25	0,86	1,03
	3,00	-0,281	22,49	-0,126	-20,93	-0,204	0,155	0,20	0,82	1,07
	5,00	-0,288	27,38	-0,110	-23,39	-0,199	0,178	0,15	0,78	1,17
pH = 9,1 [MnP] = 0,53 mM	0,05	-0,242	3,68	-0,167	-3,82	-0,205	0,075	1,61	0,85	0,96
	0,10	-0,242	5,09	-0,163	-5,32	-0,203	0,079	1,27	0,95	0,96
	0,20	-0,244	7,01	-0,158	-7,41	-0,201	0,086	0,92	0,98	0,95
	0,30	-0,249	8,42	-0,153	-8,96	-0,201	0,096	0,65	0,85	0,94
	0,50	-0,250	10,60	-0,150	-11,29	-0,200	0,100	0,58	0,97	0,94
	0,75	-0,252	12,72	-0,145	-13,46	-0,199	0,107	0,48	0,99	0,95
	1,00	-0,257	14,51	-0,139	-15,07	-0,198	0,118	0,38	0,89	0,96
	1,50	-0,257	17,51	-0,134	-17,80	-0,196	0,123	0,34	0,99	0,98
	2,00	-0,258	19,93	-0,126	-19,65	-0,192	0,132	0,29	0,96	1,01
	3,00	-0,263	24,09	-0,117	-22,36	-0,190	0,146	0,23	0,94	1,08
	5,00	-0,273	30,72	-0,108	-26,17	-0,191	0,165	0,17	0,92	1,17

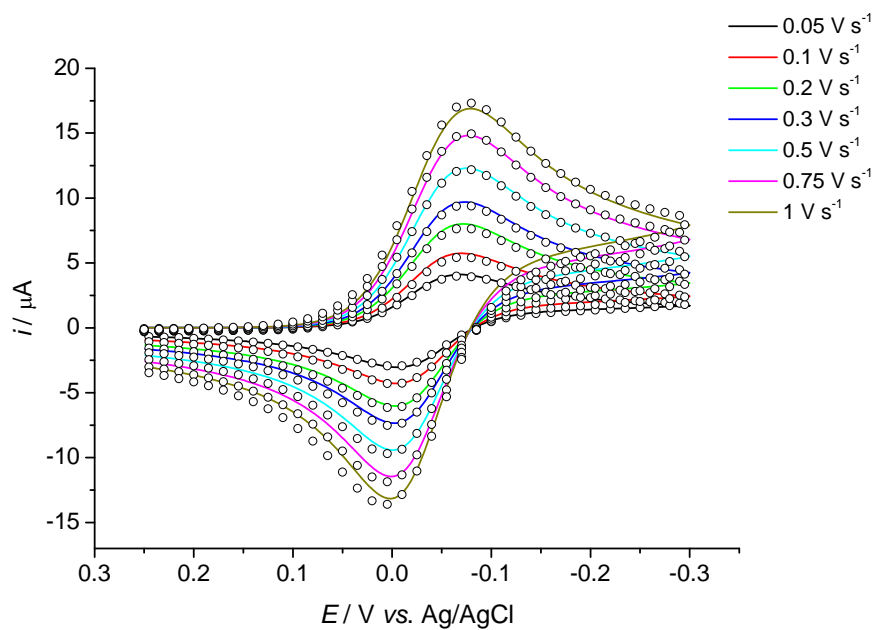
pH = 10,4 [MnP] = 0,52 mM	0,05	-0,226	3,92	-0,151	-3,79	-0,189	0,075	1,61	0,85	1,03
	0,10	-0,226	5,35	-0,147	-5,19	-0,187	0,079	1,27	0,95	1,03
	0,20	-0,232	7,46	-0,144	-7,36	-0,188	0,088	0,85	0,90	1,01
	0,30	-0,232	9,05	-0,141	-8,87	-0,187	0,091	0,77	0,99	1,02
	0,50	-0,233	11,60	-0,134	-11,18	-0,184	0,099	0,60	1,00	1,04
	0,75	-0,239	14,07	-0,129	-13,29	-0,184	0,110	0,45	0,92	1,06
	1,00	-0,239	16,25	-0,126	-14,99	-0,183	0,113	0,42	0,99	1,08
	1,50	-0,244	19,74	-0,119	-17,51	-0,182	0,125	0,33	0,95	1,13
	2,00	-0,246	22,67	-0,112	-19,36	-0,179	0,134	0,28	0,93	1,17
	3,00	-0,256	27,50	-0,103	-21,84	-0,180	0,153	0,21	0,84	1,26
	5,00	-0,264	35,74	-0,091	-24,83	-0,178	0,173	0,16	0,83	1,44
pH = 11,4 [MnP] = 0,52 mM	0,05	-0,232	3,56	-0,157	-3,74	-0,195	0,075	1,61	0,84	0,95
	0,10	-0,232	4,92	-0,152	-5,19	-0,192	0,080	1,20	0,89	0,95
	0,20	-0,237	6,81	-0,149	-7,23	-0,193	0,088	0,85	0,89	0,94
	0,30	-0,237	8,25	-0,148	-8,69	-0,193	0,089	0,82	1,05	0,95
	0,50	-0,238	10,52	-0,141	-10,94	-0,190	0,097	0,63	1,04	0,96
	0,75	-0,242	12,69	-0,135	-13,02	-0,189	0,107	0,48	0,97	0,97
	1,00	-0,243	14,56	-0,135	-14,71	-0,189	0,108	0,47	1,10	0,99
	1,50	-0,248	17,68	-0,126	-17,24	-0,187	0,122	0,35	0,99	1,03
	2,00	-0,250	20,30	-0,121	-19,37	-0,186	0,129	0,30	1,00	1,05
	3,00	-0,257	24,66	-0,117	-22,09	-0,187	0,140	0,25	1,01	1,12
	5,00	-0,263	32,00	-0,103	-25,48	-0,183	0,160	0,19	0,97	1,26

pH = 12,2 [MnP] = 0,50 mM	0,05	-0,271	3,26	-0,196	-3,71	-0,234	0,075	1,61	0,84	0,88
	0,10	-0,272	4,44	-0,193	-5,17	-0,233	0,079	1,27	0,93	0,86
	0,20	-0,277	6,02	-0,185	-7,23	-0,231	0,092	0,74	0,77	0,83
	0,30	-0,275	7,17	-0,184	-8,78	-0,230	0,091	0,77	0,98	0,82
	0,50	-0,278	8,83	-0,176	-11,14	-0,227	0,102	0,55	0,90	0,79
	0,75	-0,281	10,57	-0,171	-13,34	-0,226	0,110	0,45	0,91	0,79
	1,00	-0,282	11,93	-0,169	-15,17	-0,226	0,113	0,42	0,98	0,79
	1,50	-0,282	14,15	-0,160	-18,05	-0,221	0,122	0,35	0,99	0,78
	2,00	-0,283	16,06	-0,155	-20,40	-0,219	0,128	0,31	1,02	0,79
	3,00	-0,283	19,22	-0,150	-23,90	-0,217	0,133	0,28	1,14	0,80
	5,00	-0,290	24,42	-0,135	-28,17	-0,213	0,155	0,20	1,04	0,87
pH = 12,9 [MnP] = 0,34 mM	0,05	-0,300	1,81	-0,215	-2,18	-0,258	0,085	0,96	0,50	0,83
	0,10	-0,299	2,42	-0,209	-3,06	-0,254	0,090	0,79	0,58	0,79
	0,20	-0,303	3,21	-0,203	-4,28	-0,253	0,100	0,58	0,60	0,75
	0,30	-0,304	3,76	-0,198	-5,16	-0,251	0,106	0,49	0,63	0,73
	0,50	-0,308	4,64	-0,194	-6,56	-0,251	0,114	0,41	0,68	0,71
	0,75	-0,303	5,45	-0,189	-7,84	-0,246	0,114	0,41	0,83	0,69
	1,00	-0,310	6,21	-0,176	-8,84	-0,243	0,134	0,28	0,65	0,70
	1,50	-0,297	7,40	-0,170	-10,45	-0,234	0,127	0,31	0,90	0,71
	2,00	-0,306	8,39	-0,167	-11,75	-0,237	0,139	0,25	0,84	0,71
	3,00	-0,301	10,44	-0,157	-13,79	-0,229	0,144	0,24	0,95	0,76
	5,00	-0,301	13,57	-0,147	-16,07	-0,224	0,154	0,20	1,05	0,84

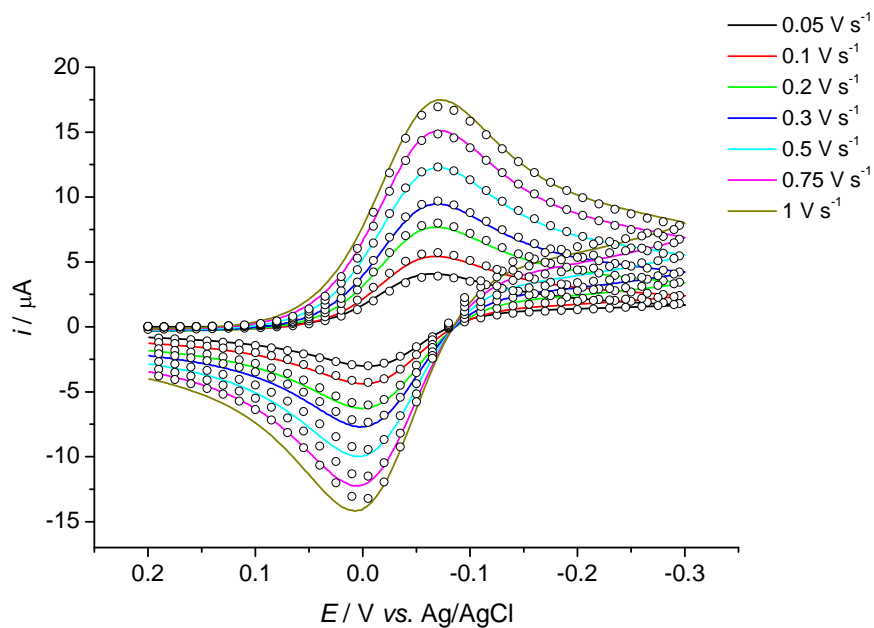
Tablica 4.12. Elektrokemijski parametri elektronskog prijelaza Mn(IV)/Mn(III) dobiveni cikličkom voltametrijom otopina MnTE-3-PyP.

otopina	$\nu / \text{V s}^{-1}$	$E_{pc} / \text{V vs. Ag/AgCl}$	$i_{pc} / \mu\text{A}$	$E_{pa} / \text{V vs. Ag/AgCl}$	$i_{pa} / \mu\text{A}$	$E_{1/2} / \text{V vs. Ag/AgCl}$	$\Delta E / \text{V}$	ψ	$k_{app}^0 / 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$	i_{pc}/i_{pa}
pH = 11,4 [MnP] = 0,52 mM	0,05	0,206	2,99	0,308	-3,72	0,257	0,102	0,55	0,27	0,80
	0,10	0,202	3,95	0,316	-5,16	0,259	0,114	0,41	0,29	0,77
	0,20	0,195	5,09	0,328	-7,05	0,262	0,133	0,28	0,28	0,72
	0,30	0,193	5,83	0,336	-8,42	0,265	0,143	0,24	0,29	0,69
	0,50	0,183	6,64	0,343	-10,47	0,263	0,160	0,19	0,29	0,63
	0,75	0,181	7,26	0,357	-12,39	0,269	0,176	0,15	0,29	0,59
	1,00	0,172	7,37	0,365	-13,88	0,269	0,193	0,12	0,27	0,53
	1,50	0,167	7,58	0,373	-16,17	0,270	0,206	0,11	0,29	0,47
	2,00	0,155	8,20	0,390	-17,92	0,273	0,235	-	-	0,46
	3,00	0,146	9,31	0,404	-20,67	0,275	0,258	-	-	0,45
	5,00	0,126	10,53	0,449	-31,20	0,288	0,323	-	-	0,34
pH = 12,2 [MnP] = 0,50 mM	0,05	0,129	3,13	0,207	-3,72	0,168	0,078	1,34	0,67	0,84
	0,10	0,127	4,25	0,211	-5,27	0,169	0,084	1,00	0,70	0,81
	0,20	0,123	5,66	0,214	-7,50	0,169	0,091	0,77	0,76	0,76
	0,30	0,121	6,65	0,217	-9,22	0,169	0,096	0,65	0,79	0,72
	0,50	0,120	8,10	0,225	-11,99	0,173	0,105	0,51	0,80	0,68
	0,75	0,119	9,35	0,229	-14,75	0,174	0,110	0,45	0,86	0,63
	1,00	0,111	10,19	0,234	-16,97	0,173	0,123	0,34	0,76	0,60
	1,50	0,106	11,33	0,238	-20,72	0,172	0,132	0,29	0,78	0,55
	2,00	0,103	12,04	0,246	-23,82	0,175	0,143	0,24	0,75	0,51
	3,00	0,094	12,60	0,253	-28,86	0,174	0,159	0,19	0,73	0,44
	5,00	0,087	13,50	0,265	-36,25	0,176	0,178	0,15	0,73	0,37

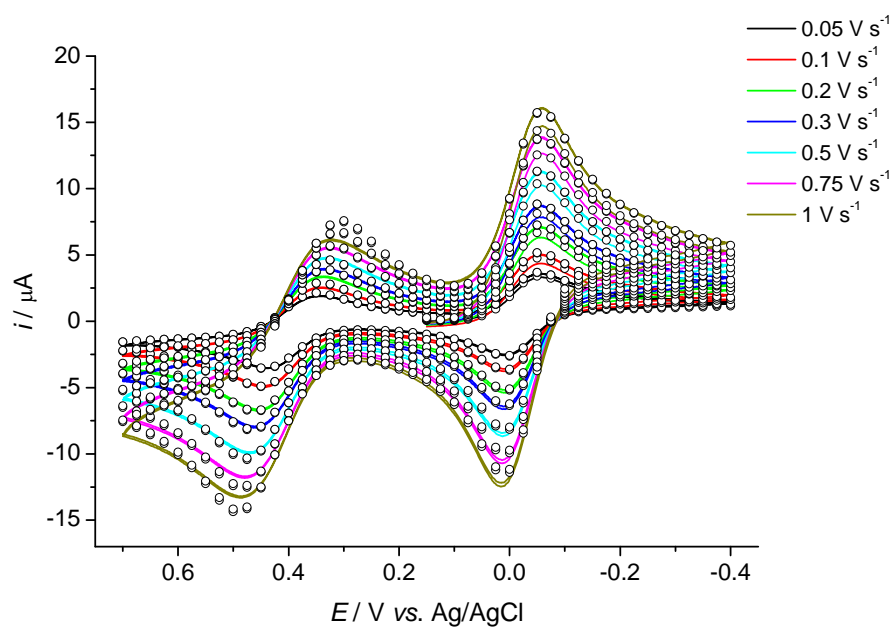
<p>pH = 12,9</p> <p>[MnP] = 0,34 mM</p>	0,05	0,065	1,95	0,140	-2,30	0,103	0,075	1,61	0,80	0,85
	0,10	0,065	2,66	0,144	-3,22	0,105	0,079	1,27	0,89	0,82
	0,20	0,065	3,60	0,149	-4,55	0,107	0,084	1,00	1,00	0,79
	0,30	0,062	4,21	0,149	-5,63	0,106	0,087	0,89	1,08	0,75
	0,50	0,062	5,21	0,156	-7,27	0,109	0,094	0,69	1,09	0,72
	0,75	0,058	5,99	0,156	-8,91	0,107	0,098	0,61	1,18	0,67
	1,00	0,058	6,66	0,160	-10,30	0,109	0,102	0,55	1,22	0,65
	1,50	0,052	7,52	0,163	-12,50	0,108	0,111	0,44	1,20	0,60
	2,00	0,044	7,83	0,169	-14,26	0,107	0,125	0,33	1,03	0,55
	3,00	0,044	8,91	0,175	-17,35	0,110	0,131	0,29	1,13	0,51
	5,00	0,040	9,37	0,185	-21,88	0,113	0,145	0,23	1,15	0,43



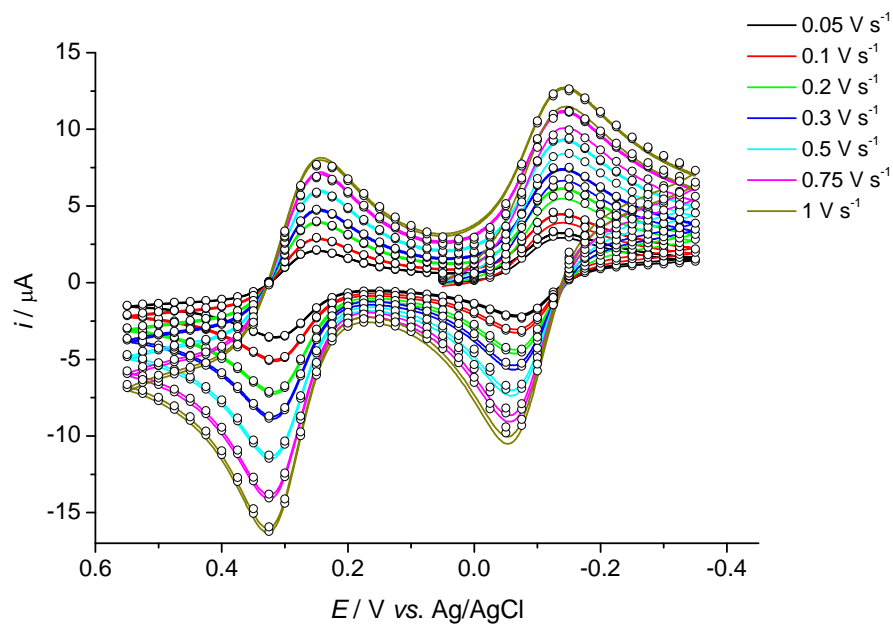
Slika 4.76. Usporedba mjerenja (—) i elektrokemijskih simulacija (○) u programu DigiElch: [MnTE-2-PyP] = 0,65 mM, pH = 7,5, [NaH₂PO₄] = 50 mM, [NaCl] = 0,1 M, $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.



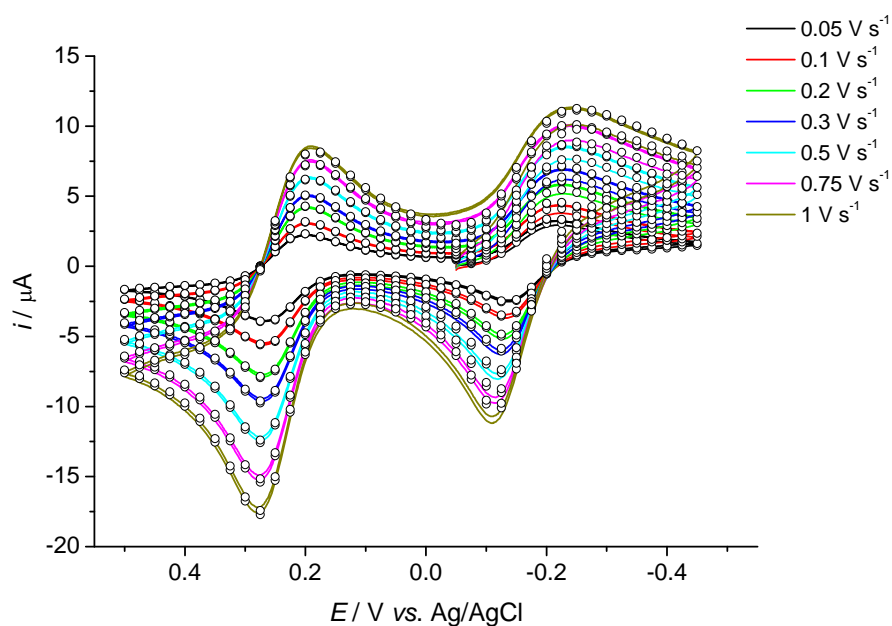
Slika 4.77. Usporedba mjerenja (—) i elektrokemijskih simulacija (○) u programu DigiElch: [MnTE-2-PyP] = 0,65 mM, pH = 8,9, [Na₂B₄O₇] = 25 mM, [NaCl] = 0,1 M, $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.



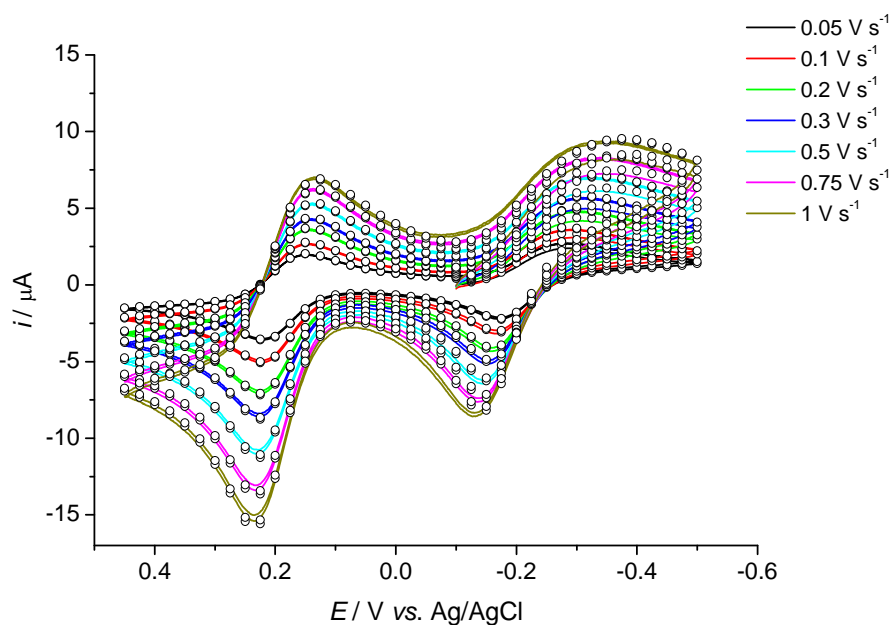
Slika 4.78 Usporedba mjerenja i elektrokemijskih simulacija (○) u programu DigiElch: [MnTE-2-PyP] = 0,53 mM, pH = 10,0, [CAPS] = 50 mM, [NaCl] = 0,1 M, $t = 25^{\circ}\text{C}$.



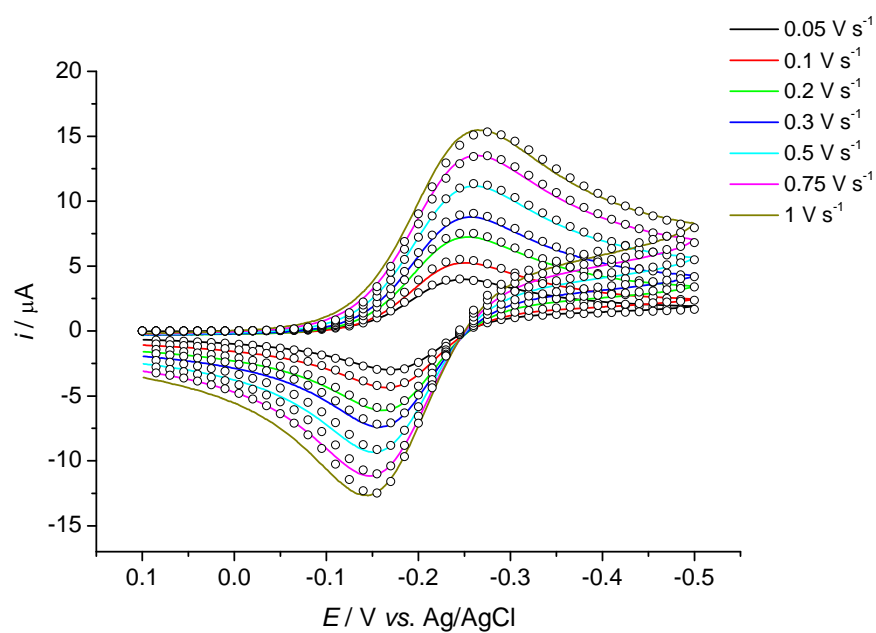
Slika 4.79. Usporedba mjerenja (—) i elektrokemijskih simulacija (○) u programu DigiElch: [MnTE-2-PyP] = 0,52 mM, pH = 11,3, [CAPS] = 50 mM, [NaCl] = 0,1 M, $t = 25^{\circ}\text{C}$.



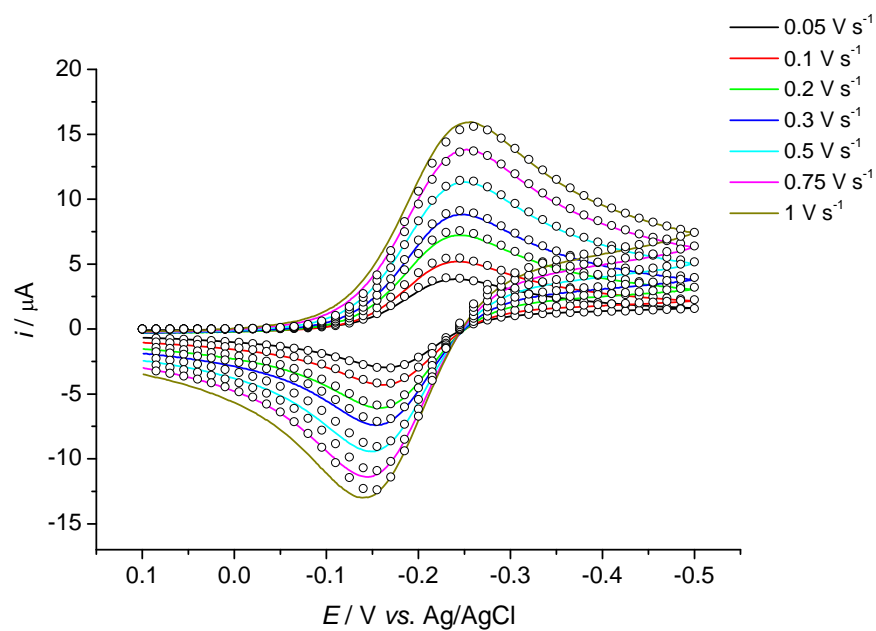
Slika 4.80. Usporedba mjerenja (—) i elektrokemijskih simulacija (○) u programu DigiElch: [MnTE-2-PyP] = 0,55 mM, pH = 12,1, [Na₂HPO₄] = 50 mM, [NaCl] = 0,1 M, $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.



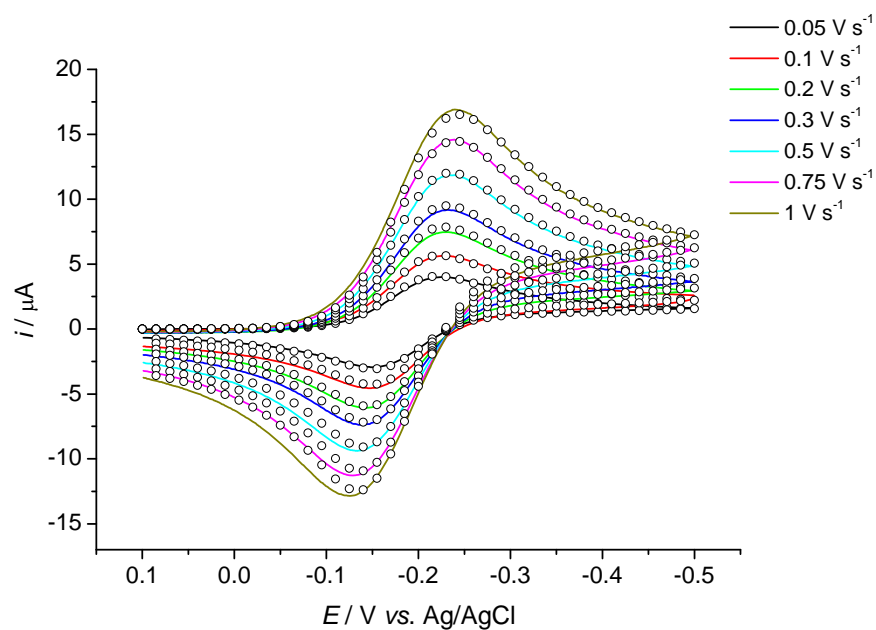
Slika 4.81. Usporedba mjerenja (—) i elektrokemijskih simulacija (○) u programu DigiElch: [MnTE-2-PyP] = 0,52 mM, [NaOH] = 0,1 M, [Na₂HPO₄] = 50 mM, [NaCl] = 0,1 M, $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.



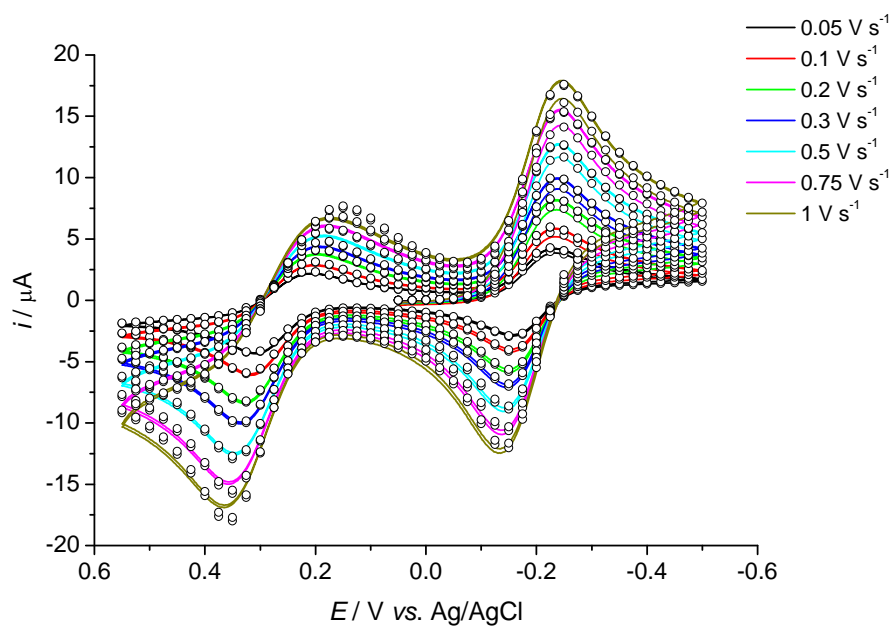
Slika 4.82. Usporedba mjerenja (—) i elektrokemijskih simulacija (○) u programu DigiElch: [MnTE-3-PyP] = 0,54 mM, pH = 7,5, [NaH₂PO₄] = 50 mM, [NaCl] = 0,1 M, $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.



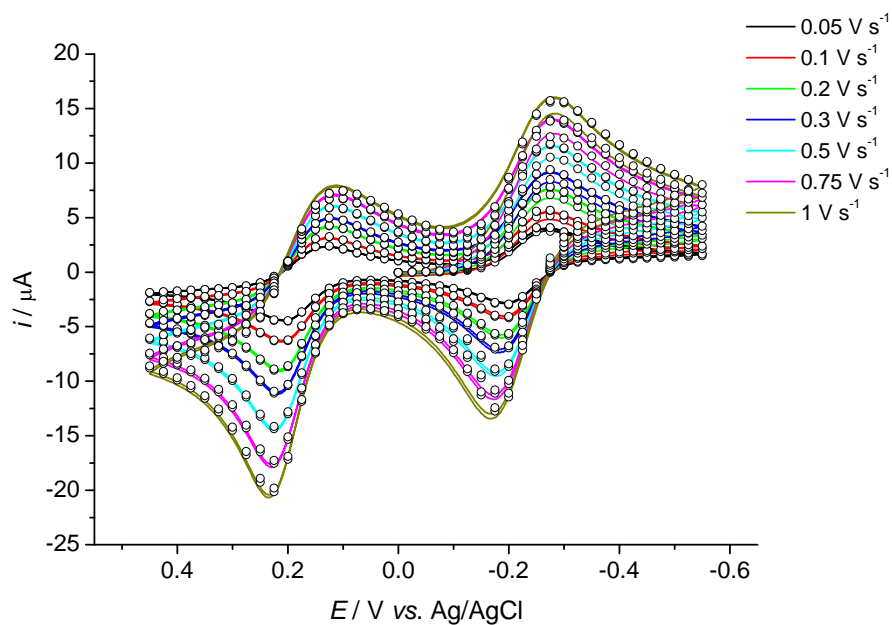
Slika 4.83. Usporedba mjerenja (—) i elektrokemijskih simulacija (○) u programu DigiElch: [MnTE-3-PyP] = 0,53 mM, pH = 9,1, [Na₂B₄O₇] = 25 mM, [NaCl] = 0,1 M, $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.



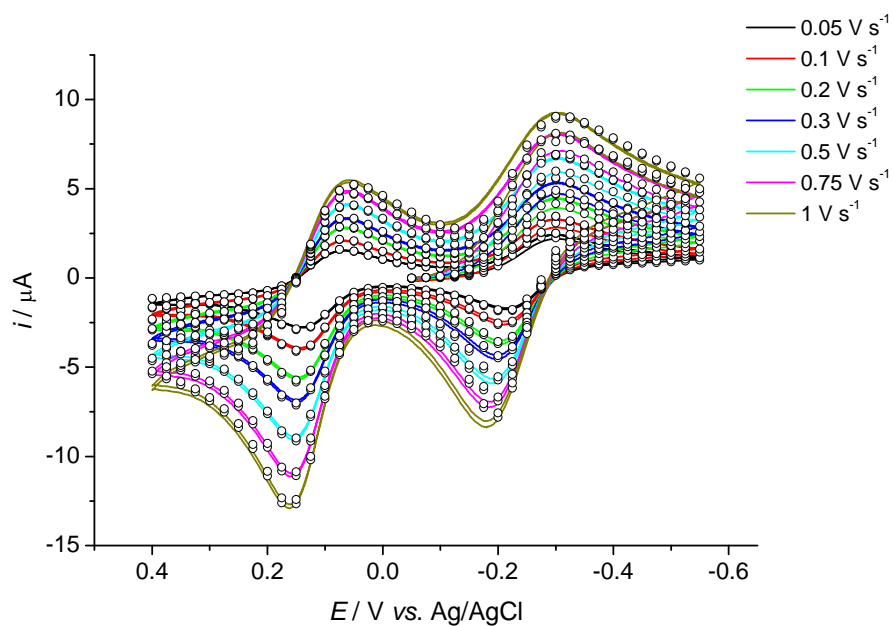
Slika 4.84. Usporedba mjerenja (—) i elektrokemijskih simulacija (○) u programu DigiElch: [MnTE-3-PyP] = 0,52 mM, pH = 10,4, [CAPS] = 50 mM, [NaCl] = 0,1 M, $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Slika 4.85. Usporedba mjerenja (—) i elektrokemijskih simulacija (○) u programu DigiElch: [MnTE-3-PyP] = 0,52 mM, pH = 11,4, [CAPS] = 50 mM, [NaCl] = 0,1 M, $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Slika 4.86. Usporedba mjerenja (—) i elektrokemijskih simulacija (○) u programu DigiElch: [MnTE-3-PyP] = 0,50 mM, pH = 12,2, [Na₂HPO₄] = 50 mM, [NaCl] = 0,1 M, $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Slika 4.87. Usporedba mjerenja (—) i elektrokemijskih simulacija (○) u programu DigiElch: [MnTE-3-PyP] = 0,34 mM, [NaOH] = 0,1 M, [Na₂HPO₄] = 50 mM, [NaCl] = 0,1 M, $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

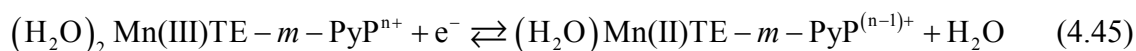
Tablica 4.13. Elektrokemijski parametri MnTE-2-PyP i MnTE-3-PyP dobiveni iz prosječnih vrijednosti $E^{0'}$ i k_{app}^0 u tablicama 4.9 do 4.12 i simulacijom cikličkih voltamograma u programu DigiElch. Formalni potencijali izraženi su prema Ag/AgCl referentnoj elektrodi.

elektronski prijelaz	MnP	pH	tablice 4.9 do 4.12		simulacija		
			$(E^{0'} \pm \sigma) /$ V vs. Ag/AgCl	$(k_{app}^0 \pm \sigma) /$ $10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$	$(E^{0'} \pm \sigma) /$ V vs. Ag/AgCl	$\alpha_{app} \pm \sigma$	$(k_{app}^0 \pm \sigma) /$ $10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$
Mn(III)P/Mn(III)P	MnTE-2-PyP	7,49	-0,0036 $\pm 0,002$	1,70 $\pm 0,20$	-0,0555 $\pm 0,0001$	0,31 $\pm 0,01$	2,18 $\pm 0,03$
		8,89	-0,033 $\pm 0,001$	1,86 $\pm 0,31$	-0,0538 $\pm 0,0001$	0,23 $\pm 0,01$	3,07 $\pm 0,06$
		10,03	-0,022 $\pm 0,001$	3,27 $\pm 0,74$	-0,0243 $\pm 0,0001$	0,32 $\pm 0,01$	3,51 $\pm 0,08$
		11,32	-0,098 $\pm 0,004$	1,42 $\pm 0,16$	-0,1016 $\pm 0,0001$	0,13 $\pm 0,01$	1,06 $\pm 0,01$
		12,13	-0,176 $\pm 0,002$	0,49 $\pm 0,04$	-0,1730 $\pm 0,0001$	0,17 $\pm 0,01$	0,42 $\pm 0,01$
		13,00	-0,235 $\pm 0,005$	0,18 $\pm 0,01$	-0,2190 $\pm 0,0001$	0,23 $\pm 0,01$	0,19 $\pm 0,01$
	MnTE-3-PyP	7,52	-0,205 $\pm 0,003$	0,78 $\pm 0,06$	-0,2057 $\pm 0,0001$	0,36 $\pm 0,01$	0,71 $\pm 0,01$
		9,12	-0,198 $\pm 0,005$	0,94 $\pm 0,05$	-0,1997 $\pm 0,0001$	0,38 $\pm 0,01$	0,93 $\pm 0,01$
		10,36	-0,183 $\pm 0,004$	0,92 $\pm 0,06$	-0,1856 $\pm 0,0001$	0,45 $\pm 0,01$	0,97 $\pm 0,01$
		11,37	-0,189 $\pm 0,004$	0,98 $\pm 0,08$	-0,1921 $\pm 0,0001$	0,44 $\pm 0,01$	0,96 $\pm 0,01$
		12,16	-0,225 $\pm 0,007$	0,95 $\pm 0,10$	-0,2279 $\pm 0,0001$	0,26 $\pm 0,01$	0,91 $\pm 0,01$
		12,93	-0,244 $\pm 0,011$	0,75 $\pm 0,18$	-0,2481 $\pm 0,0001$	0,19 $\pm 0,01$	0,65 $\pm 0,01$
Mn(IV)P/Mn(III)P	MnTE-2-PyP	10,03	0,405 $\pm 0,010$	0,33 $\pm 0,02$	0,3954 $\pm 0,0001$	0,49 $\pm 0,01$	0,23 $\pm 0,01$
		11,32	0,285 $\pm 0,003$	1,86 $\pm 0,28$	0,2839 $\pm 0,0001$	0,16 $\pm 0,01$	1,15 $\pm 0,01$
		12,13	0,234 $\pm 0,002$	1,70 $\pm 0,23$	0,2334 $\pm 0,0001$	0,19 $\pm 0,01$	0,92 $\pm 0,01$
		13,00	0,185 $\pm 0,001$	1,08 $\pm 0,15$	0,1843 $\pm 0,0001$	0,22 $\pm 0,01$	0,62 $\pm 0,01$
	MnTE-3-PyP	11,37	0,268 $\pm 0,001$	0,29 $\pm 0,01$	0,2771 $\pm 0,0001$	0,39 $\pm 0,01$	0,31 $\pm 0,01$
		12,16	0,1720 $\pm 0,003$	0,75 $\pm 0,05$	0,1850 $\pm 0,0001$	0,21 $\pm 0,01$	0,84 $\pm 0,01$
		12,93	0,107 $\pm 0,003$	1,07 $\pm 0,13$	0,1225 $\pm 0,0001$	0,20 $\pm 0,01$	1,05 $\pm 0,01$

Tablica 4.14. Difuzijski koeficijenti MnTE-2-PyP i MnTE-3-PyP dobiveni simulacijom cikličkih voltamograma u programu DigiElch.

Mn(III)TE-2-PyP		Mn(III)TE-3-PyP	
pH	$(D \pm \sigma) / 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$	pH	$(D \pm \sigma) / 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$
7,49	$2,384 \pm 0,004$	7,52	$3,540 \pm 0,006$
8,89	$2,371 \pm 0,004$	9,12	$3,552 \pm 0,006$
10,03	$2,414 \pm 0,002$	10,36	$3,806 \pm 0,006$
11,32	$2,296 \pm 0,001$	11,37	$3,538 \pm 0,002$
12,13	$2,446 \pm 0,002$	12,16	$3,849 \pm 0,003$
13,00	$2,233 \pm 0,002$	12,93	$3,386 \pm 0,004$

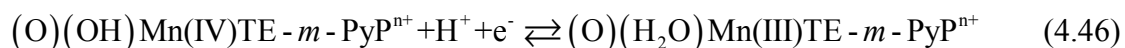
Dobiveni rezultati upućuju na postojanje jednostavne jednoelektronske redukcije Mn(III)P u neutralnom mediju, prema jednadžbi (4.45).

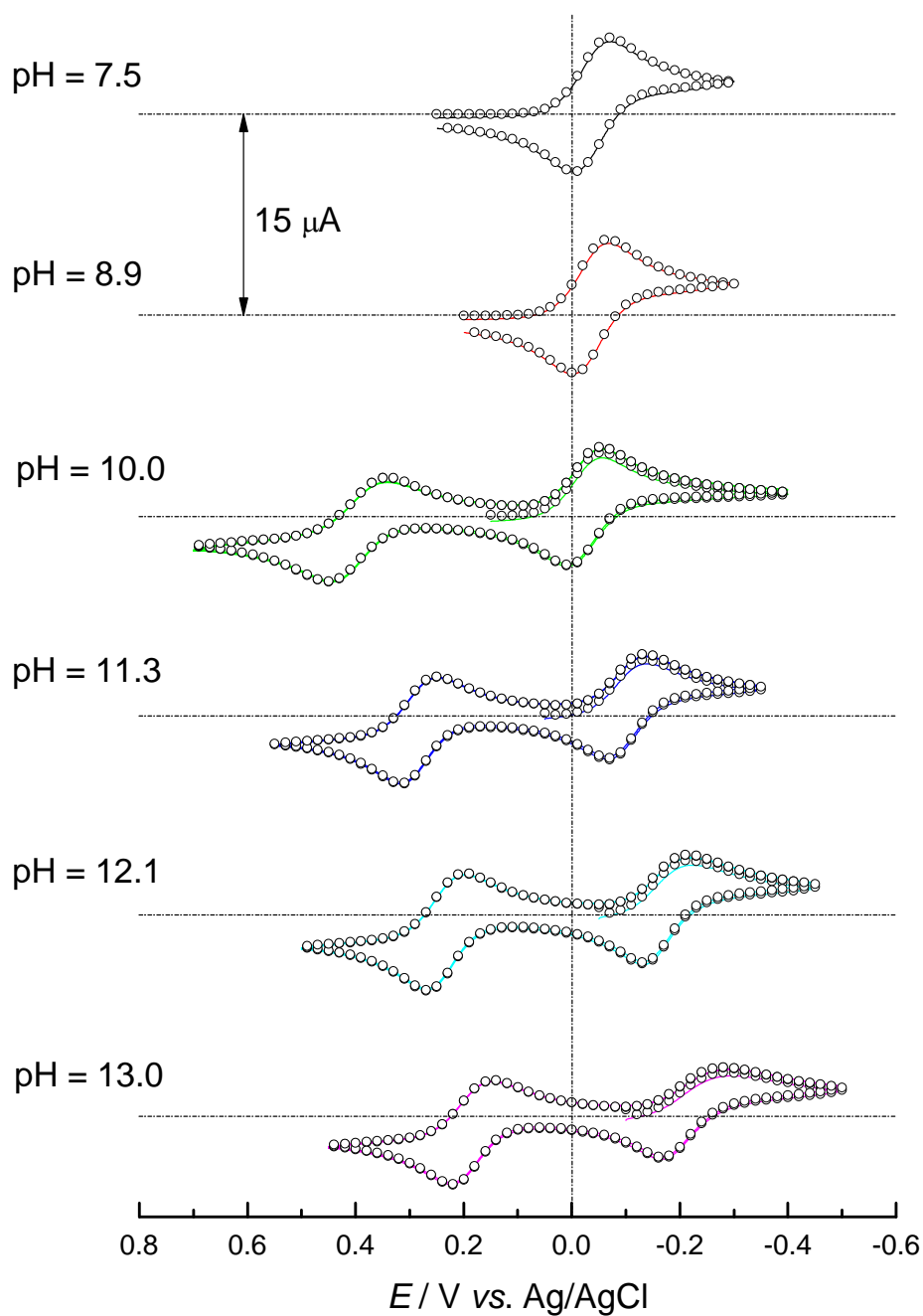


Neovisnost formalnog redoks potencijala i ostalih elektrokemijskih parametara o pH u području do $\text{pH} < 10$ pokazuje da pri ovim uvjetima (0,05 M puferi i 0,1 M NaCl) nijedan proton nije uključen u proces redukcije. Pri vrijednosti $\text{pH} > 10$ počinje se opažati pomak potencijala prema negativnijim vrijednostima, što se nastavlja daljim povećanjem vrijednosti pH. Ovo smanjenje može se pripisati deprotonaciji aksijalne molekule vode Mn(III)P prema jednadžbi (4.2). Pri višim vrijednostima pH dobiveni ciklički voltamogrami rezultat su postojanja smjese različitih deprotoniranih specija Mn(III)P i Mn(II)P koja se ponaša kao jednostavan jedno-elektronski prijelaz čiji formalni potencijal E^0 i konstanta prijelaza k_{app}^0 ovise o pH.⁷⁶⁻⁸⁰ Opažena vrijednost katodnog koeficijenta prijelaza $\alpha_{\text{app}} < 0,5$ pri višim vrijednostima pH upućuje na asimetričnost funkcije potencijalne energije prijelaznog stanja, odnosno da je struktura aktiviranog kompleksa redoks para Mn(III)P/Mn(II)P predominantno nalik oksidiranoj vrsti jer promjena potencijala elektrode pokazuje veći utjecaj na aktivacijsku energiju redukcije, ΔG_c^\ddagger , prema izrazima (3.48) i (3.49).⁴⁰

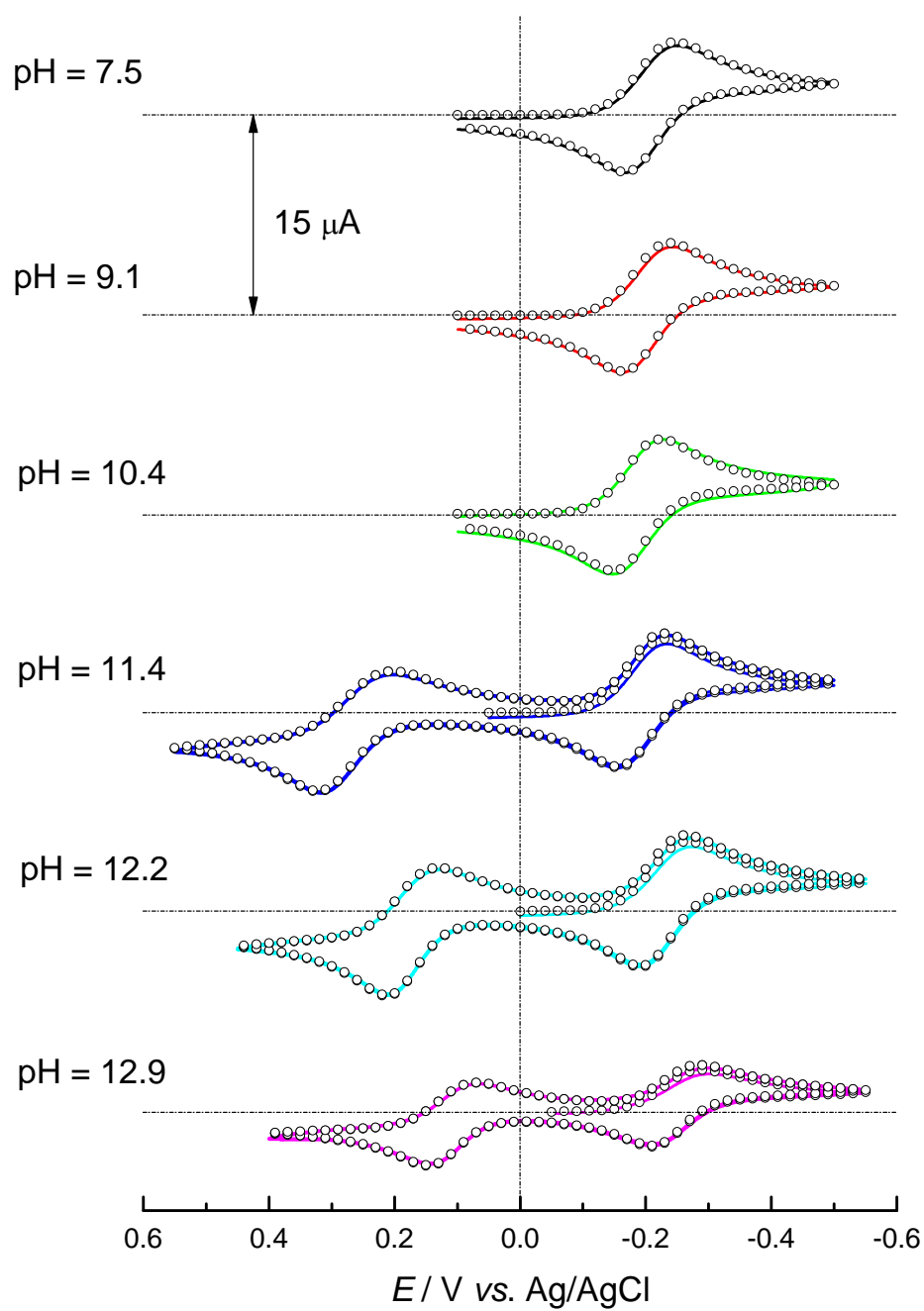
Redoks reakcija prijelaza Mn(IV)P/(Mn(III)P) pokazuje značajnu ovisnost o pH. U neutralnom području pH nije moguće uočiti ovaj prijelaz jer je njegov formalni potencijal znatno viši od potencijala oksidacije vode (odjeljak 4.4.2), ali porastom pH smanjuje se formalni potencijal i raste brzina prijenosa elektrona čime vrhovi krivulja cikličkih voltamograma postaju definirani. Ovakvo ponašanje može se pripisati reakciji redukcije Mn(IV)P uz izmjenu 2 protona, prema povratnoj reakciji u jednadžbi (4.35). U području pH > 10 dolazi do pomicanja redoks potencijala para Mn(IV)/Mn(III) prema negativnijim vrijednostima za oko –120 mV po jedinici pH, što se izvrsno podudara s Nernstovom jednadžbom koja predviđa promjenu redoks potencijala od –118 mV/pH za dvoprotonsku, jednoelektronsku reakciju koja je termodinamički favorizirana u bazičnim otopinama.

Pri još višim vrijednostima pH dolazi do pomicanja formalnog potencijala za oko –60 mV po jedinici pH, što se opet izvrsno podudara s Nernstovom jednadžbom koja predviđa promjenu redoks potencijala od –59 mV/pH za jedno-protonsku, jedno-elektronsku reakciju, prema izrazu (4.46). Ovisnost izgleda cikličkih voltamograma o pH prikazana je na slikama 4.88 i 4.89.





Slika 4.88. Ovisnost cikličkih voltamograma otopina MnTE-2-PyP o vrijednosti pH, $\nu = 0,1 \text{ V s}^{-1}$, $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$, $t = 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$, (\circ) simulacija u programu DigiElch.

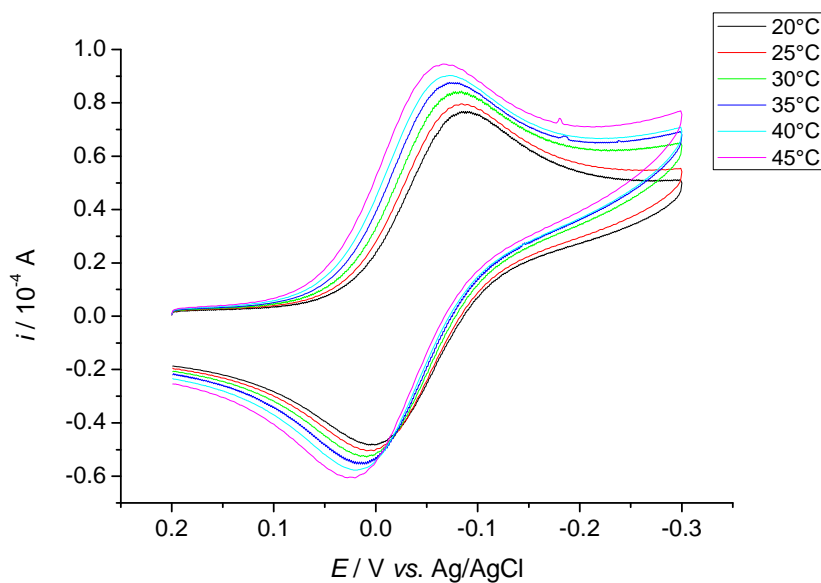


Slika 4.89. Ovisnost cikličkih voltamograma otopina MnTE-3-PyP o vrijednosti pH, $\nu = 0,1 \text{ V s}^{-1}$, $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$, $t = 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$, (\circ) simulacija u programu DigiElch.

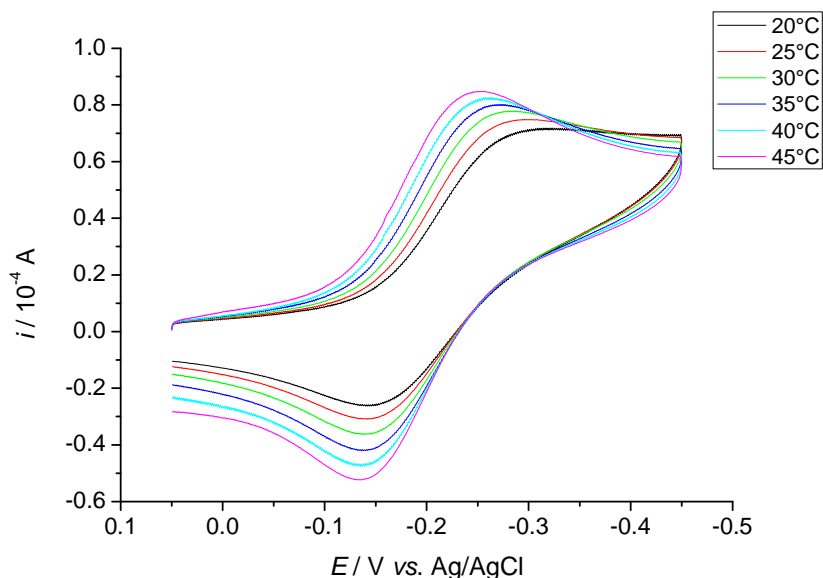
4.4.5. Termodinamika elektroredukcije Mn(III)P

Termodinamički parametri elektroredukcije kompleksa Mn(III)P dobiveni su mjerenjem temperature ovisnosti formalnog potencijala redoks para Mn(III)P/Mn(II)P cikličkom voltametrijom, prema postupku opisanom u odjeljku 4.4.3. Izmjereni ciklički voltamogrami otopina MnP korištenih u pokusima u odjeljku 4.4.4 u rasponu temperatura od 20 °C do 45 °C prikazani su na slikama 4.90 i 4.91.

Karakteristične vrijednosti katodnog i anodnog strujnog vrha, E_{pc} i E_{pa} , dobivene su direktno iz elektrokemijskog softvera CHI korištenog pri mjerenju, te su prema njima računane vrijednosti poluvalnog potencijala, $E_{1/2}$, prema izrazu (3.56). Ciklički voltamogrami izmjereni su pri pH = 7,5 jer su pri tim uvjetima dominantne protonirane specije kompleksa Mn(III)P i Mn(II)P (odjeljak 4.3.5).



Slika 4.90. Ciklički voltamogrami otopine MnTE-2-PyP u rasponu od 20 °C do 45 °C: [MnTE-2-PyP] = 0,65 mM, pH = 7,5, [NaH₂PO₄] = 50 mM, [NaCl] = 0,1 M.

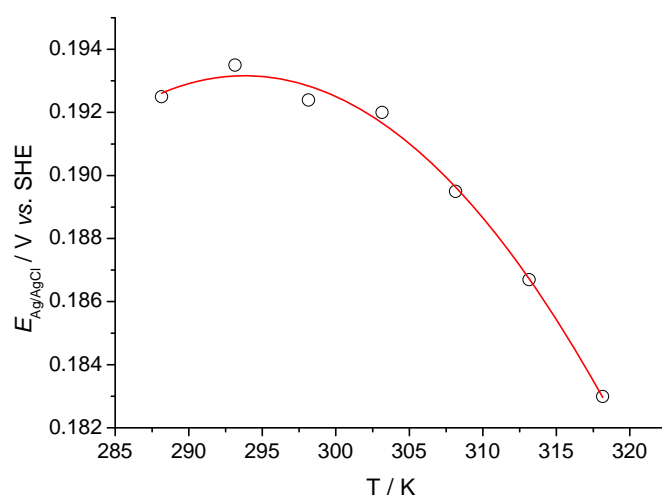


Slika 4.91. Ciklički voltamogrami otopine MnTE-3-PyP u rasponu od 20 °C do 45 °C: [MnTE-3-PyP] = 0,54 mM, pH = 7,5, [NaH₂PO₄] = 50 mM, [NaCl] = 0,1 M.

Odziv radne elektrode mjereno je prema Ag/AgCl referentnoj elektrodi (3 M NaCl), u skladu s prethodnim voltametrijskim pokusima, te je iz potencijala anodnog i katodnog strujnog vrha određen $E_{1/2}$ za redoks par Mn(III)P/Mn(II)P. Temperaturna ovisnost potencijala Ag/AgCl elektrode prema SCE prethodno je određena u istim eksperimentalnim uvjetima, a pomoću poznate temperaturne ovisnosti potencijala zasićene kalomelove elektrode prema SHE, E_{SCE} ,⁷³ obradom podataka dobiven je izraz za temperaturnu ovisnost potencijala Ag/AgCl elektrode prema SHE: $E_{Ag/AgCl} \text{ vs. SHE} = -2 \times 10^{-5} T^2 + 0,01 T - 1,295$, $R^2 = 0,9948$ (tablica 4.15 i slika 4.92).

Tablica 4.15. Temperaturna ovisnost potencijala Ag/AgCl elektrode prema SCE, odnosno prema SHE.

$t / ^\circ\text{C}$	T / K	$E_{\text{Ag/AgCl}} / \text{V vs. SCE}$	$E_{\text{SCE}} / \text{V vs. SHE}$	$E_{\text{Ag/AgCl}} / \text{V vs. SHE}$
15	288,15	-49,9	0,242	0,192
20	293,15	-45,4	0,239	0,193
25	298,15	-43,0	0,235	0,192
30	303,15	-39,9	0,232	0,192
35	308,15	-38,9	0,228	0,189
40	313,15	-38,2	0,225	0,187
45	318,15	-38,4	0,221	0,183



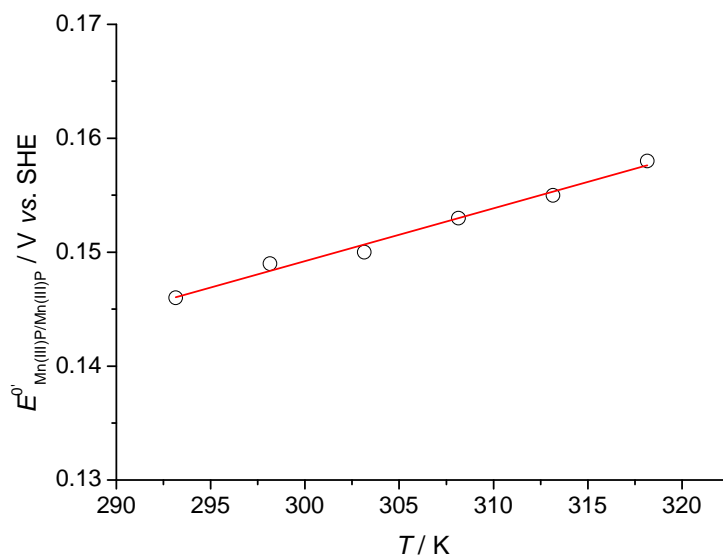
Slika 4.92. Temperaturna ovisnost potencijala Ag/AgCl elektrode prema SHE: pH = 7,5, $[\text{NaH}_2\text{PO}_4] = 50 \text{ mM}$, $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$.

Kombiniranjem poznatog izraza za temperaturnu ovisnost potencijala Ag/AgCl elektrode prema SHE i poznatih vrijednosti $E_{1/2}$ za redoks parove Mn(III)P/Mn(II)P moguće je odrediti temperaturnu ovisnost $E^{\circ'}_{\text{Mn(III)P/Mn(II)P}}$ prema SHE, kao i temperaturnu ovisnost apsolutnog formalnog potencijala, $E^{\circ'}_{\text{Mn(III)P/Mn(II)P}(\text{abs})}$. Rezultati dobiveni cikličkom voltametrijom otopina MnTE-2-PyP i MnTE-3-PyP prikazani su u tablici 4.16 i na slikama 4.93 do 4.96. Pretpostavljeno je da rigidnost porfirinskog prstena isključuje značajnu razliku difuzijskih koeficijenata specija Mn(III)P i Mn(II)P, odnosno da vrijedi $D_{\text{O}} \approx D_{\text{R}}$ i $E_{1/2} \approx E^{\circ'}$ prema izrazu (4.41), dok je za račun vrijednosti apsolutnog formalnog potencijala korišten izraz (4.44).^{44, 75}

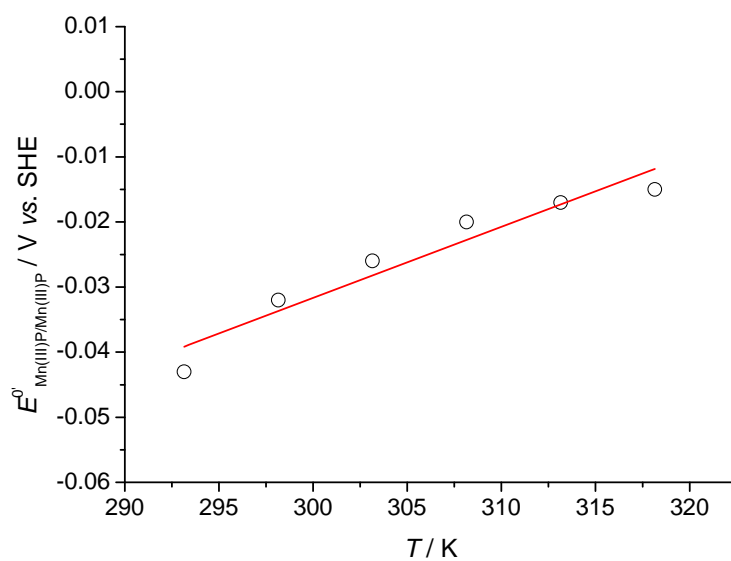
Nadalje, iz poznate ovisnosti potencijala o T moguće je prema izrazima (4.42) i (4.43) računati termodinamičke parametre elektoredukcije Mn(III)P prikazane u tablicama 4.17 i 4.18.

Tablica 4.16. Temperaturna ovisnost formalnog potencijala $E^{0'}_{\text{Mn(III)P/Mn(II)P}}$ prema SHE i temperaturnu ovisnost apsolutnog formalnog potencijala, $E^{0'}_{\text{Mn(III)P/Mn(II)P}}$ (abs) izmjerena cikličkom voltametrijom otopina MnTE-2-PyP i MnTE-3-PyP: pH = 7,5, [NaH₂PO₄] = 50 mM, [NaCl] = 0,1 M.

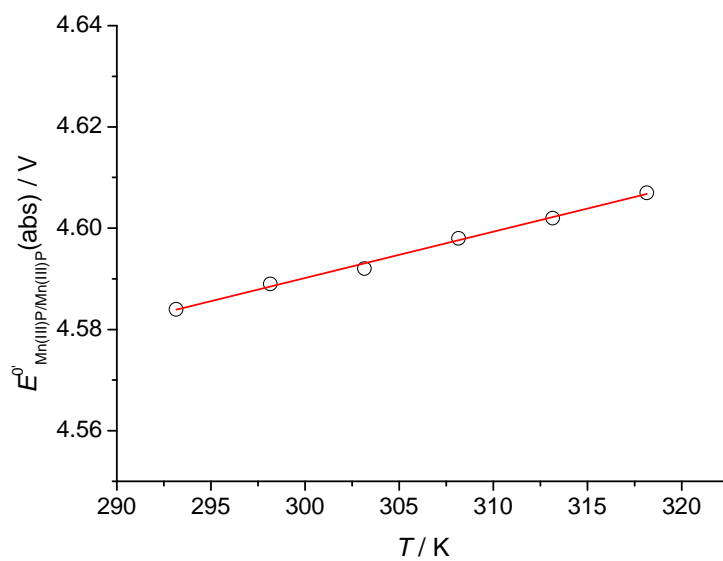
MnP	$t / ^\circ\text{C}$	T / K	$E_{\text{pc}} / \text{V vs. Ag/AgCl}$	$E_{\text{pa}} / \text{V vs. Ag/AgCl}$	$E^{0'} / \text{V vs. Ag/AgCl}$	$E^{0'} / \text{V vs. SHE}$	$E^{0'} (\text{abs}) / \text{V}$
MnTE-2-PyP	20	293,15	-0,084	0,001	-0,042	0,146	4,584
	25	298,15	-0,084	0,008	-0,038	0,149	4,589
	30	303,15	-0,082	0,009	-0,037	0,150	4,592
	35	308,15	-0,072	0,011	-0,031	0,153	4,598
	40	313,15	-0,072	0,02	-0,026	0,155	4,602
	45	318,15	-0,067	0,028	-0,020	0,158	4,607
MnTE-3-PyP	20	293,15	-0,319	-0,142	-0,231	-0,043	4,395
	25	298,15	-0,296	-0,142	-0,219	-0,032	4,408
	30	303,15	-0,286	-0,139	-0,213	-0,026	4,416
	35	308,15	-0,271	-0,136	-0,204	-0,020	4,425
	40	313,15	-0,262	-0,135	-0,199	-0,017	4,429
	45	318,15	-0,251	-0,133	-0,192	-0,015	4,434



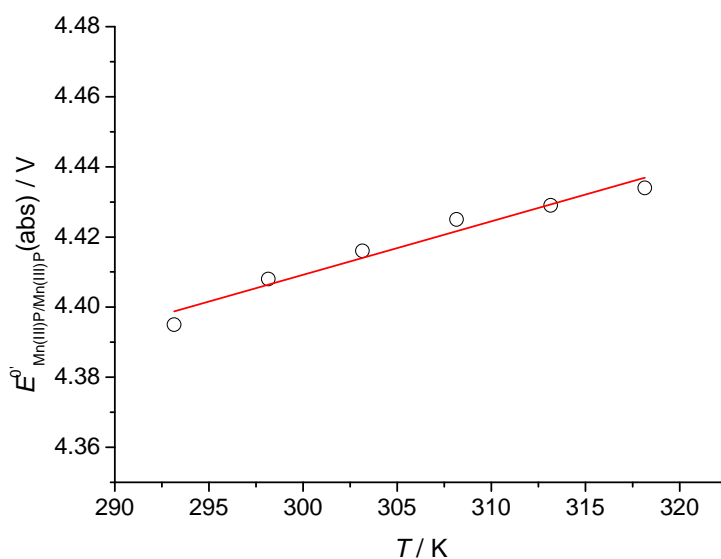
Slika 4.93. Temperaturna ovisnost formalnog potencijala $E^{0'}_{\text{Mn(III)P/Mn(II)P}}$: [MnTE-2-PyP] = 0,65 mM, pH = 7,5, [NaH₂PO₄] = 50 mM, [NaCl] = 0,1 M.



Slika 4.94. Temperaturna ovisnost formalnog potencijala $E^0_{\text{Mn(III)P/Mn(II)P}}$: $[\text{MnTE-3-PyP}] = 0,54 \text{ mM}$, $\text{pH} = 7,5$, $[\text{NaH}_2\text{PO}_4] = 50 \text{ mM}$, $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$.



Slika 4.95. Temperaturna ovisnost apsolutnog formalnog potencijala $E^0_{\text{Mn(III)P/Mn(II)P}} (\text{abs})$: $[\text{MnTE-2-PyP}] = 0,65 \text{ mM}$, $\text{pH} = 7,5$, $[\text{NaH}_2\text{PO}_4] = 50 \text{ mM}$, $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$.



Slika 4.96. Temperaturna ovisnost formalnog potencijala $E^0_{\text{Mn(III)P/Mn(II)P}} \text{ (abs)}$: $[\text{MnTE-3-PyP}] = 0,54 \text{ mM}$, $\text{pH} = 7,5$, $[\text{NaH}_2\text{PO}_4] = 50 \text{ mM}$, $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$.

Tablica 4.17. Termodinamički parametri elektoredukcije kompleksa Mn(III)P : $\text{pH} = 7,5$, $[\text{NaH}_2\text{PO}_4] = 50 \text{ mM}$, $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$. Vrijednosti su računane iz formalnih potencijala izraženih prema SHE.

MnP	$\Delta H^0' \pm \sigma / \text{kJ mol}^{-1}$	$\Delta S^0' \pm \sigma / \text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$
MnTE-2-PyP	-29 ± 1	48 ± 3
MnTE-3-PyP	-29 ± 6	106 ± 19

Tablica 4.18. Apsolutni termodinamički parametri elektoredukcije kompleksa Mn(III)P : $\text{pH} = 7,5$, $[\text{NaH}_2\text{PO}_4] = 50 \text{ mM}$, $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$. Vrijednosti su računane iz apsolutnih formalnih potencijala.

MnP	$\Delta H^0' \text{ (abs)} \pm \sigma / \text{kJ mol}^{-1}$	$\Delta S^0' \text{ (abs)} \pm \sigma / \text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$
MnTE-2-PyP	-469 ± 2	88 ± 7
MnTE-3-PyP	-468 ± 6	145 ± 12

4.4.6. Kronokulometrijsko mjerenje elektroredukcije Mn(III)P

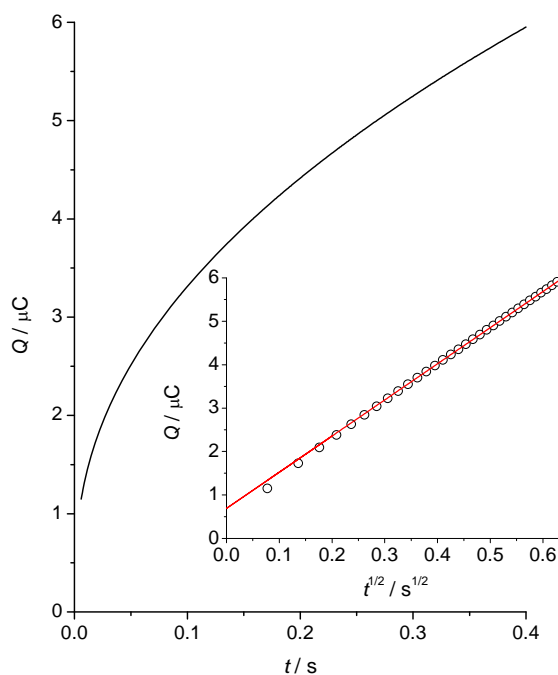
Kronokulometrijska mjerenja izvršena su pri različitim vrijednostima pH u jednakim uvjetima kao i mjerenja u odjeljku 4.4.4. Granične vrijednosti primijenjenog potencijala, E_1 i E_2 , odabrane su tako da vrijednost E_1 bude oko 200 mV pozitivnija, a vrijednost E_2 oko 300 mV negativnija od formalnih potencijala redoks parova Mn(III)P/Mn(II)P određenih digitalnom simulacijom cikličkih voltamograma (tablica 4.13). Dobiveni kronokulogrami i ovisnost količine naboja Q o $t^{1/2}$ u trajanju od $t_{\max} = 0,4$ s prikazani su na slikama 4.97 do 4.101.

Difuzijski koeficijenti Mn(III)P, D , dobiveni su iz nagiba pravaca ovisnosti Q o $t^{1/2}$, $\Delta Q/\Delta t^{1/2}$, prema jednadžbi (3.60), dok je površinska koncentracija molekula MnP, Γ_O , dobivena iz odsjeka pravaca, Q_0 , prema jednadžbi (3.62). Vrijednost Q_{ads} korištena u izrazu (3.62) dobivena je oduzimanjem vrijednosti odsjeka pravaca Q vs. $t^{1/2}$ čistog pozadinskog elektrolita, Q_{dl} , odnosno $Q_{\text{ads}} = Q_0 - Q_{\text{dl}}$. Molekulni promjeri su procijenjeni iz vrijednosti Γ_O prema izrazu $r = (\Gamma_O N_A \pi)^{-1/2}$.

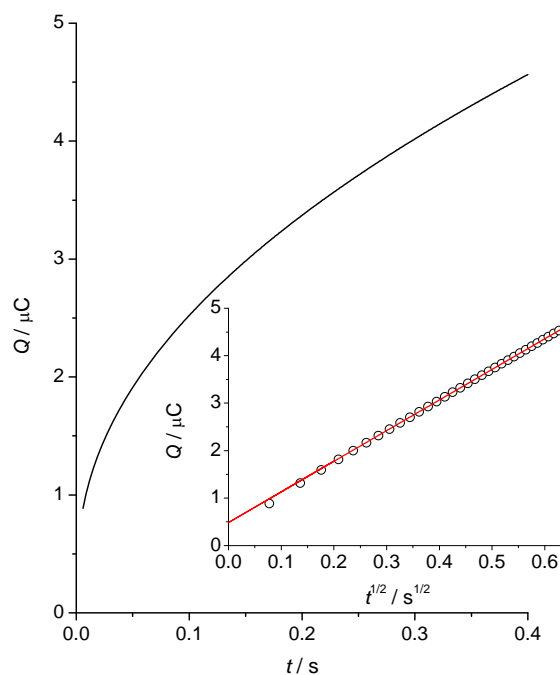
Rezultati kronokulometrijskih mjerenja (tablica 4.19) upućuju na smanjenje vodenih šupljina obaju kompleksa povećanjem pH otopine, što se može pripisati smanjenju pozitivnog naboja na središnjem ionu uslijed deprotonacija aksijalnih molekula vode. S druge strane, prva deprotonacija MnTE-2-PyP ($pK_{a1} = 10.89$, tablica 4.2) neznatno utječe na veličinu vodene šupljine *orto* kompleksa, najvjerojatnije zahvaljujući jačim vodikovim vezama molekula vode u otopini s nastalim OH-ligandom. Također je moguće uočiti veći polumjer vodene šupljine MnTE-3-PyP ($r = 32,64 \text{ \AA}$ vs. $r = 24,47 \text{ \AA}$ za MnTE-2-PyP), što je u skladu s očekivanim povećanjem voluminoznosti molekule pomicanjem supstituenata iz *orto* u *meta* položaj.

Tablica 4.19 Rezultati kronokulometrijskih mjerenja otopina MnTE-2-PyP i MnTE-3-PyP.

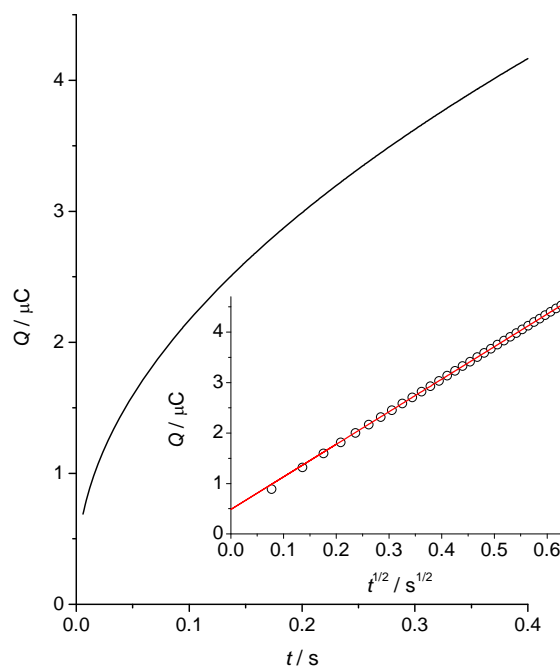
MnP	pH	[MnP] / mM	$(\Delta Q / \Delta t^{1/2} \pm \sigma) / 10^{-6} \text{ C s}^{-1/2}$	$(Q_0 \pm \sigma) / 10^{-6} \text{ C}$	$(D \pm \sigma) / 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$	$(\Gamma_0 \pm \sigma) / 10^{-12} \text{ mol cm}^{-2}$	$(r \pm \sigma) / \text{\AA}$
MnTE-2-PyP	7,5	0,65	$8,3183 \pm 0,0009$	$0,6933 \pm 0,0005$	$2,8070 \pm 0,0006$	$8,82 \pm 0,07$	$24,47 \pm 0,10$
	11,3	0,51	$6,4494 \pm 0,0003$	$0,4863 \pm 0,0002$	$2,7033 \pm 0,0003$	$8,69 \pm 0,02$	$24,66 \pm 0,03$
	13,0	0,52	$6,3274 \pm 0,0007$	$0,1606 \pm 0,0004$	$2,5393 \pm 0,0006$	$15,47 \pm 0,06$	$18,48 \pm 0,03$
MnTE-3-PyP	7,5	0,54	$9,2265 \pm 0,0011$	$0,9597 \pm 0,0006$	$4,9984 \pm 0,0012$	$4,96 \pm 0,09$	$32,64 \pm 0,29$
	12,2	0,50	$7,9584 \pm 0,0008$	$0,9390 \pm 0,0004$	$4,4119 \pm 0,0009$	$10,60 \pm 0,06$	$22,33 \pm 0,07$



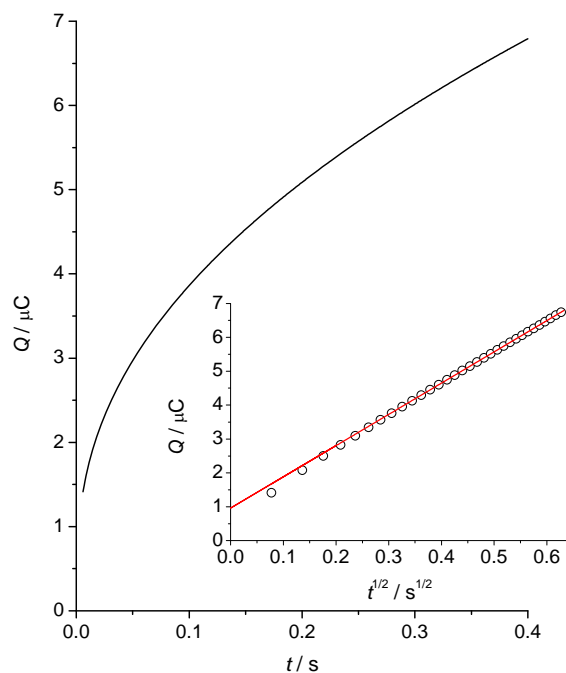
Slika 4.97. Kronokulometrijsko mjerenje MnP: [MnTE-2-PyP] = 0,65 mM, pH = 7,5, [NaH₂PO₄] = 50 mM, [NaCl] = 0,1 M, $t = 25^\circ\text{C}$, $E_1 = 0,2 \text{ V}$, $E_2 = -0,35 \text{ V}$, $t_{\text{max}} = 0,4 \text{ s}$. Umetak: Ansonov dijagram ovisnosti Q o $t^{1/2}$.



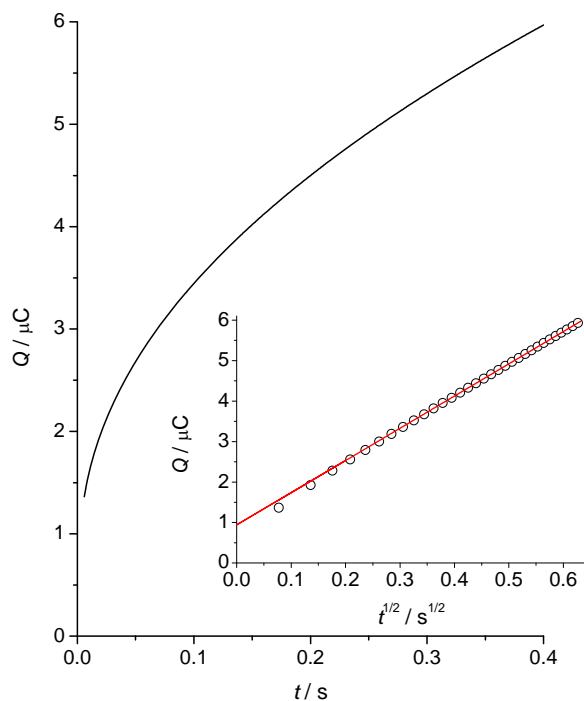
Slika 4.98. Kronokulometrijsko mjerenje MnP: $[\text{MnTE-2-PyP}] = 0,52 \text{ mM}$, $\text{pH} = 11,3$, $[\text{CAPS}] = 50 \text{ mM}$, $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$, $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $E_1 = 0,1 \text{ V}$, $E_2 = -0,4 \text{ V}$, $t_{\text{max}} = 0,4 \text{ s}$. Umetak: Ansonov dijagram ovisnosti Q o $t^{1/2}$.



Slika 4.99. Kronokulometrijsko mjerenje MnP: $[\text{MnTE-2-PyP}] = 0,52 \text{ mM}$, $[\text{NaOH}] = 0,1 \text{ M}$, $[\text{Na}_2\text{HPO}_4] = 50 \text{ mM}$, $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$, $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $E_1 = 0 \text{ V}$, $E_2 = -0,5 \text{ V}$, $t_{\text{max}} = 0,4 \text{ s}$. Umetak: Ansonov dijagram ovisnosti Q o $t^{1/2}$.



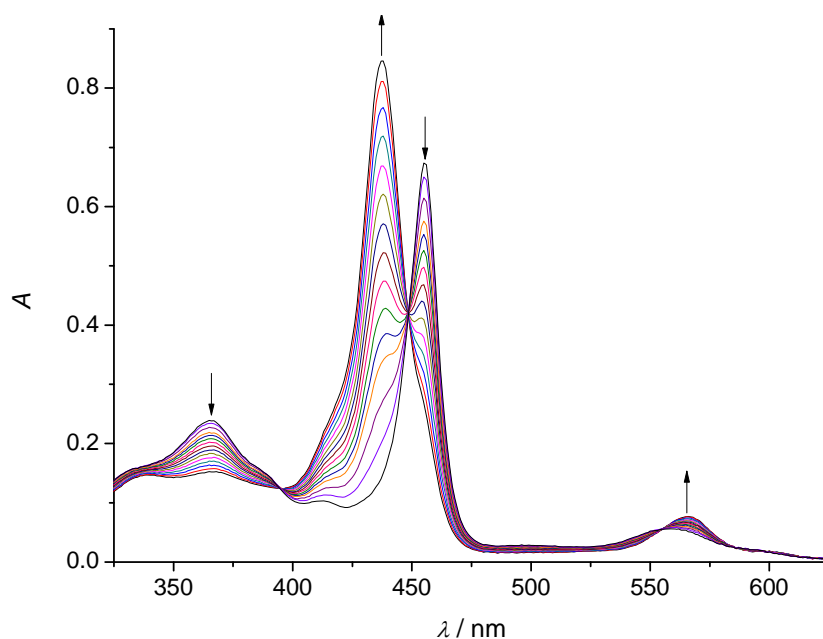
Slika 4.100. Kronokulometrijsko mjerenje MnP: $[\text{MnTE-3-PyP}] = 0,54 \text{ mM}$, $\text{pH} = 7,5$, $[\text{NaH}_2\text{PO}_4] = 50 \text{ mM}$, $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$, $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $E_1 = 0 \text{ V}$, $E_2 = -0,5 \text{ V}$, $t_{\text{max}} = 0,4 \text{ s}$. Umetak: Ansonov dijagram ovisnosti Q o $t^{1/2}$.



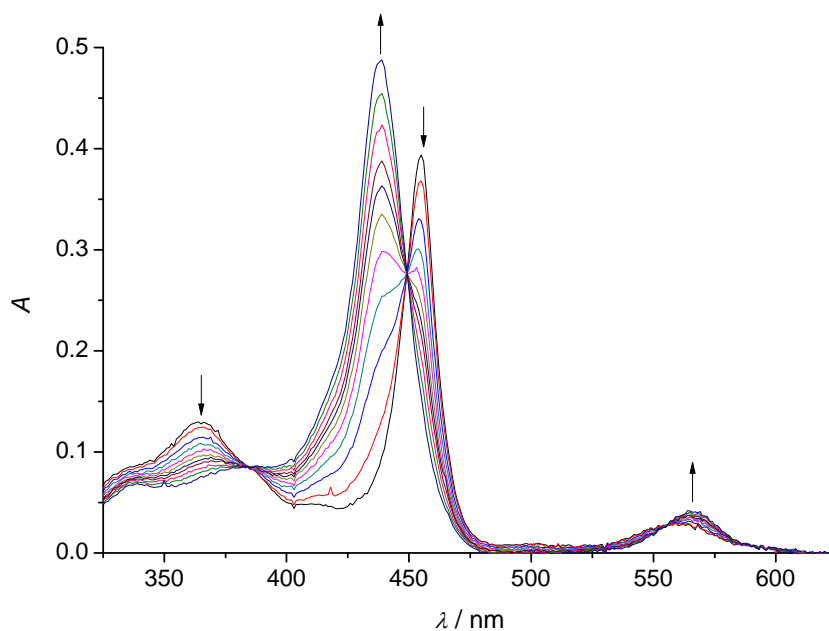
Slika 4.101. Kronokulometrijsko mjerenje MnP: $[\text{MnTE-3-PyP}] = 0,50 \text{ mM}$, $\text{pH} = 12,2$, $[\text{Na}_2\text{HPO}_4] = 50 \text{ mM}$, $[\text{NaCl}] = 0,1 \text{ M}$, $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $E_1 = 0 \text{ V}$, $E_2 = -0,55 \text{ V}$, $t_{\text{max}} = 0,4 \text{ s}$. Umetak: Ansonov dijagram ovisnosti Q o $t^{1/2}$.

4.4.7. Spektroelektrokemijsko mjerenje redoks parova Mn(III)P/Mn(II)P

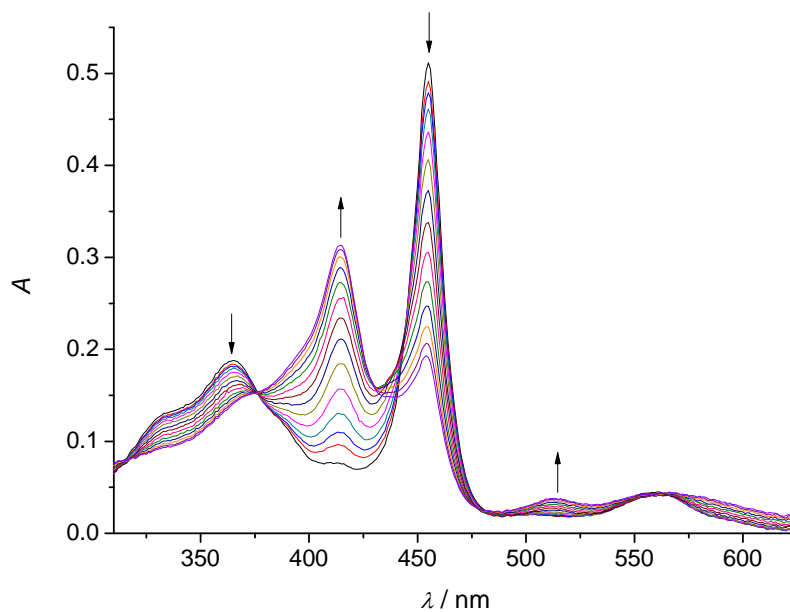
Literaturni podaci ukazuju na nestabilnost Mn(II)P koji se u kiselom mediju raspadaju na slobodne kovinske ione i porfirinski ligand.^{65,66} Prije određivanja kiselo-baznih svojstava kompleksa Mn(II)P (odjeljak 4.3.2) određen je raspon vrijednosti pH u kojem su dovoljno stabilni za izvođenje titracija. Stabilnost kompleksa Mn(II)P provjerena je primjenom potencijala oko 250 mV negativnijeg od formalnog reduksijskog potencijala odgovarajućeg kompleksa Mn(III)P ($E_{\text{appl.}} = -450$ mV *vs.* Ag/AgCl za MnTE-2-PyP i $E_{\text{appl.}} = -600$ mV *vs.* Ag/AgCl za MnTE-3-PyP, rezultati određivanja formalnih reduksijskih potencijala prikazani su u odjeljku 4.4.4). Vodene otopine Mn(III)P određenog pH, deaerirane su propuštanjem argona u trajanju od barem 15 minuta kroz SEC UV-Vis ćeliju (odjeljak 4.2) kako bi se smanjila mogućnost reoksidacije Mn(II)P kisikom iz zraka. Opažene spektralne promjene prikazane su na slikama 4.102 do 4.106. Spektri su snimani u intervalima od 30 s tijekom 30 minutnog narinuća potencijala na Pt-elektrode uronjene u otopinu u ćeliji.



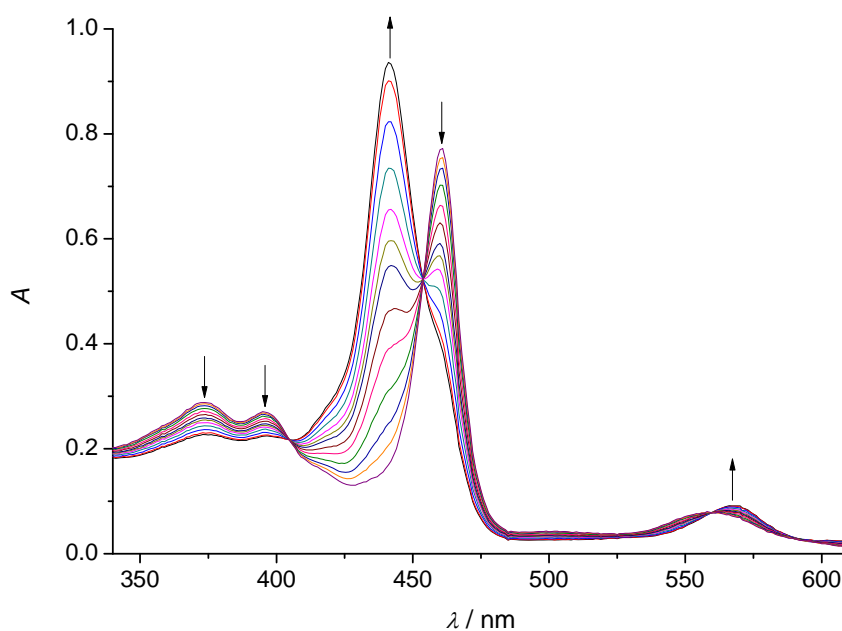
Slika 4.102. Spektralna promjena opažena elektroredukcijom Mn(III)TE-2-PyP u SEC UV-Vis ćeliji pri pH = 8 (0,05 M NaH₂PO₄): [Mn(III)TE-2-PyP] = $4,9 \times 10^{-5}$ M, $I = 0,1$ M (NaCl), $t = 25$ °C, $l = 0,1$ cm, $E_{\text{appl.}} = -450$ mV *vs.* Ag/AgCl. Neki spektri izostavljeni su radi preglednosti.



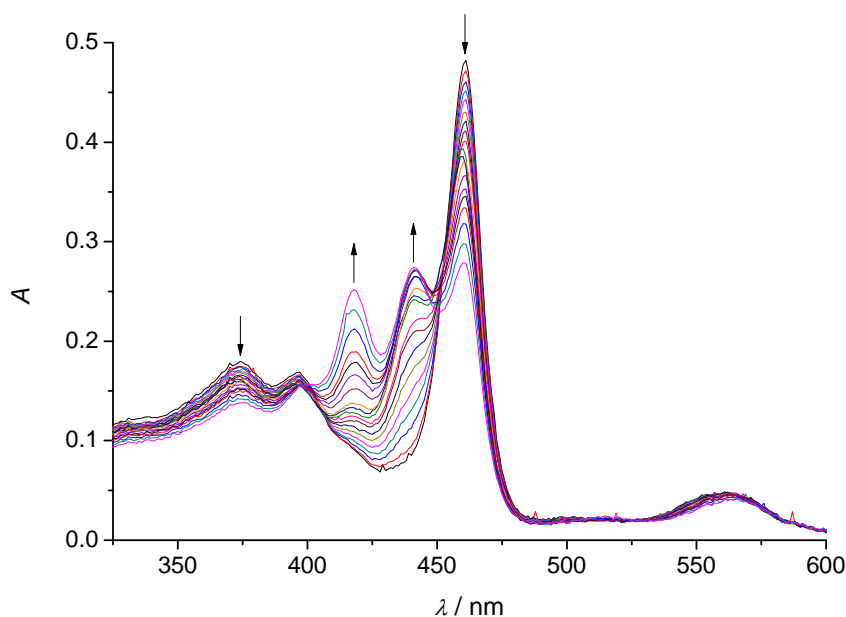
Slika 4.103. Spektralna promjena opažena elektroredukcijom Mn(III)TE-2-PyP u SEC UV-Vis ćeliji pri pH = 4 (0,05M CH₃COONa): [Mn(III)TE-2-PyP] = $2,9 \times 10^{-5}$ M, $I = 0,1$ M (NaCl), $t = 25$ °C, $l = 0,1$ cm, $E_{\text{appl}} = -450$ mV vs. Ag/AgCl. Neki spektri izostavljeni su radi preglednosti.



Slika 4.104. Spektralna promjena opažena elektroredukcijom Mn(III)TE-2-PyP u SEC UV-Vis ćeliji pri pH = 1,5: [Mn(III)TE-2-PyP] = $3,7 \times 10^{-5}$ M, $I = 0,1$ M (NaCl), $t = 25$ °C, $l = 0,1$ cm, $E_{\text{appl}} = -450$ mV vs. Ag/AgCl. Neki spektri izostavljeni su radi preglednosti.



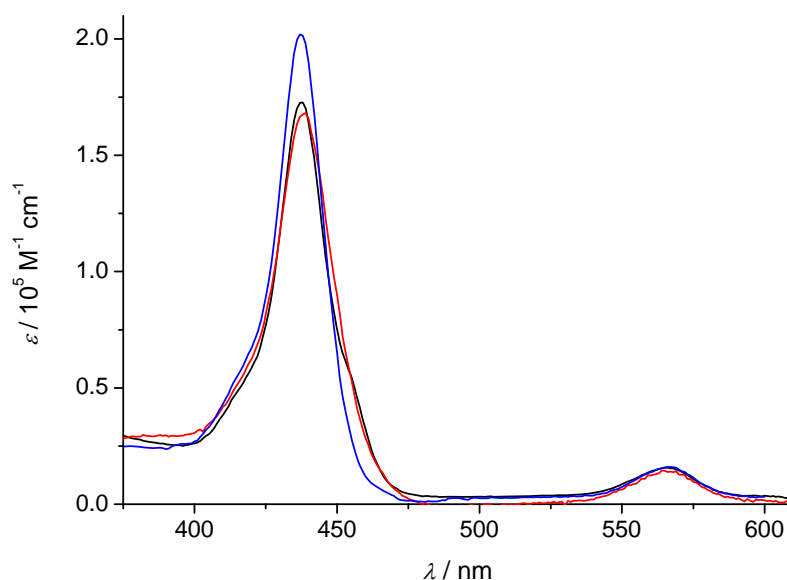
Slika 4.105. Spektralna promjena opažena elektroredukcijom Mn(III)TE-3-PyP u SEC UV-Vis ćeliji pri pH = 9 (0,025M Na₂B₄O₇): [Mn(III)TE-3-PyP] = 5×10^{-5} M, $I = 0,1$ M (NaCl), $t = 25$ °C, $l = 0,1$ cm, $E_{\text{appl}} = -600$ mV vs. Ag/AgCl. Neki spektri izostavljeni su radi preglednosti.



Slika 4.106. Spektralna promjena opažena elektroredukcijom Mn(III)TE-3-PyP u SEC UV-Vis ćeliji pri pH = 4 (0,05M CH₃COONa): [Mn(III)TE-3-PyP] = $3,1 \times 10^{-5}$ M, $I = 0,1$ M (NaCl), $t = 25$ °C, $l = 0,1$ cm, $E_{\text{appl}} = -600$ mV vs. Ag/AgCl. Neki spektri izostavljeni su radi preglednosti.

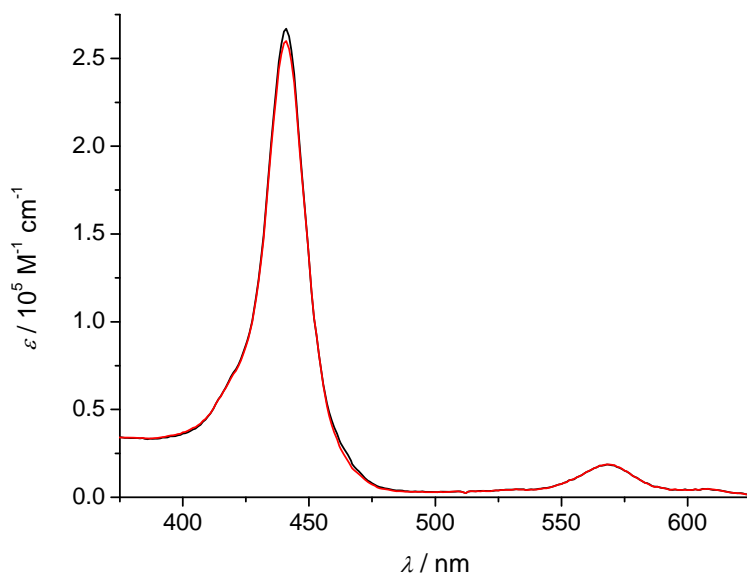
Zabilježene spektralne promjene potvrđuju nestabilnost oba kompleksa Mn(II)P u kiselom mediju. U slučaju Mn(II)TE-2-PyP pri $\text{pH} \leq 2$ nakon početne redukcije dolazi do ireverzibilnog raspada kompleksa i pojave nove specije čiji apsorpcijski maksimum odgovara

ishodnom porfirinu, $\text{H}_2\text{TE-2-PyP}$ ($\lambda_{\text{max}} = 414 \text{ nm}$) (slika 4.104). Spektralne promjene zabilježene elektoredukcijom Mn(III)TE-2-PyP na $\text{pH} = 4$ (slika 4.103) i $\text{pH} = 7$ (slika 4.102) vrlo su slične, ali na $\text{pH} = 4$ nije moguće potpuno reverzibilno elektrokemijski reoksidirati nastali Mn(II)TE-2-PyP u početni Mn(III)TE-2-PyP , već se pojavljuje ista specija kao prilikom redukcije na $\text{pH} \leq 2$, što upućuje na brži raspad kompleksa pri nižem pH . Spektralne specije Mn(II)TE-2-PyP dobivene elektrokemijskom redukcijom i reakcijom s askorbinskom kiselinom ne podudaraju se u potpunosti (slika 4.107). Razlika u spektrima nakon reakcije s askorbatom i nakon elektoredukcije na $\text{pH} = 7$ vjerojatno se može objasniti nepotpunom redukcijom u ćeliji (tj. u ćeliji je prisutna smjesa Mn(II)TE-2-PyP i Mn(III)TE-2-PyP). Spektar zabilježen elektoredukcijom na $\text{pH} = 4$ također je smjesa reduciranog i nereduciranog porfirina te $\text{H}_2\text{TE-2-PyP}$.



Slika 4.107. Spektralne specije dobivene redukcijom Mn(III)TE-2-PyP s askorbatom pri $\text{pH} = 8$ (—) i elektoredukcijom pri $\text{pH} = 8$ (—) i $\text{pH} = 4$ (—).

Kompleks Mn(II)TE-3-PyP je još nestabilniji u kiselom mediju te elektoredukcija već na $\text{pH} = 4$ izaziva raspad porfirinskog kompleksa i pojavljivanje nove specije koja izgledom spektra odgovara ishodnom porfirinu, $\text{H}_2\text{TE-3-PyP}$ ($\lambda_{\text{max}} = 418 \text{ nm}$) (slika 4.106). Spektralne specije Mn(II)TE-3-PyP dobivene elektrokemijskom redukcijom (slika 4.105) i reakcijom s askorbinskom kiselinom dobro se podudaraju (slika 4.108), najvjerojatnije uslijed sporije reoksidacije Mn(II)TE-3-PyP u usporedbi Mn(II)TE-2-PyP .



Slika 4.108. Spektralne specije dobivene redukcijom Mn(III)TE-3-PyP askorbatom pri pH = 10,5 (—) i elektroredukcijom pri pH = 9 (—).

Rezultati spektroelektrokemijskog mjerenja redoks parova Mn(III)P/Mn(II)P pokazuju je da je u području pH > 7 moguće izvoditi titracije reduciranih kompleksa MnP na način kako je opisano u odjeljku 4.3.2.

5. Rasprava

Rezultati određivanja konstanta disocijacije kompleksa MnP spektrofotometrijskim titracijama potvrđuju postojanje triju specija Mn(III)P u vodenim otopinama u rasponu pH vrijednosti $1,5 < \text{pH} < 13$. Uzimajući u obzir različite eksperimentalne uvjete u kojima su izvršena prethodno objavljena mjerenja, dobivene vrijednosti (odjeljak 4.3.5) dobro se podudaraju s vrijednostima konstanta disocijacije sličnih kompleksa, primjerice metil- ili butil- analoga istraživanih Mn porfirina: $\text{p}K_{\text{a}1}(\text{Mn(III)TM-2-PyP}) = 10,5$, $\text{p}K_{\text{a}2}(\text{Mn(III)TM-2-PyP}) = 11,4$, $\text{p}K_{\text{a}1}(\text{Mn(III)TM-3-PyP}) = 11,5$, i $\text{p}K_{\text{a}2}(\text{Mn(III)TM-3-PyP}) = 13,2$, $\text{p}K_{\text{a}1}(\text{Mn(III)TnBu-2-PyP}) = 10,3$, $\text{p}K_{\text{a}2}(\text{Mn(III)TnBu-2-PyP}) = 11,2$).^{14, 34, 81} Mjerenja su izvršena i u vrlo kiselim otopinama, te je moguće zaključiti da su potpuno protonirane specije Mn(III)P dobivene spektralnom obradom podataka diakva-kompleksi sa dvije aksijalno koordinirane molekule vode.

Nasuprot tome, samo dvije specije kompleksa Mn(II)P su eksperimentalno potvrđene u zadanim uvjetima. Pitanje o kojim specijama je riječ razjašnjeno je kombiniranjem rezultata kiselo-baznih titracija u kojima su MnP potpuno reducirani (odjeljak 4.3.2) s onima u kojima su u otopini prisutne smjese oksidiranih i reduciranih oblika, odnosno Mn(III)P i Mn(II)P (odjeljak 4.4.1). Mjerenje spektara u području pH u kojem su oba kompleksa Mn(III)P potpuno protonirana (diakva-specije), pokazuje da redukcija kompleksa askorbinskom kiselinom nije ovisna o izmjeni protona na molekulama MnP. Stoga je moguće zaključiti da su u tom području eksperimentalno dostupne specije Mn(II)P potpuno protonirane, odnosno da su uz njih u mjernom području dostupne i mono-deprotonirane specije.

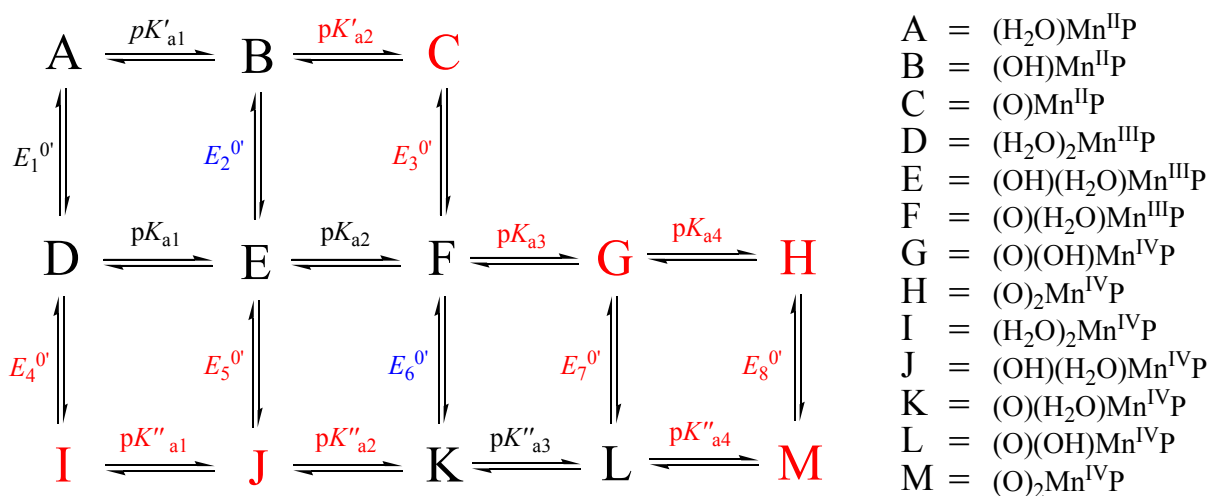
Izostanak detekcije potpuno deprotoniranih specija Mn(II)P ponešto iznenađuje, osobito jer su titracije izvršene u vrlo lužnatom području, $\text{pH} \approx 13$. Međutim, za razliku od kompleksa Mn(III)P i Mn(IV)P, kompleksi Mn(II)P koordiniraju samo jednu aksijalnu molekulu vode)³⁵ uslijed povećanja ionskog radijusa Mn nakon redukcije. Zbog toga dolazi do pomicanja Mn iznad ravnine porfirinskog prstena i oslobađanja jedne koordinirane molekule vode. Termodinamička stabilnost i kinetička inertnost Mn(II)P znatno slabe u kiselom mediju, što konačno dovodi do opaženog raspada kompleksa (odjeljak 4.4.7). Na temelju toga, moguće je zaključiti da specija nastala potpunom deprotonacijom Mn(II)P može koordinirati samo jedan

aksijalni okso-ligand, prema jednadžbi (4.8). Takav kompleks može biti destabiliziran nepovoljnom reorganizacijom molekula otapala, te smanjenjem i redistribucijom naboja na kompleksu kao posljedice snažne π -veze okso-liganda i središnjeg iona Mn^{2+} .

Obradom podataka spektrofotometrijskih titracija $Mn(IV)P$ u vodenom mediju također su (odjeljak 4.3.3) potvrđene samo dvije specije, premda je raspon eksperimentalno dostupnih vrijednosti pH ograničen nemogućnošću potpune oksidacije $Mn(III)P$ pri $pH < 10$. Kompleksi $Mn(IV)$ nestabilni su u neutralnom i kiselom mediju jer dolazi do reakcije s molekulama vode i regeneracije $Mn(III)P$, prema reakciji $2 Mn(IV)P + H_2O \rightarrow 2 Mn(III)P + \frac{1}{2} O_2 + 2 H^+$.⁸² Pri izvođenju pokusa bilo je moguće odabrati mnogo snažniji oksidans, ali moguća oksidacija vode i vjerojatna oksidacija kompleksa u $Mn(V)$ ⁸³ rezultirali su pokusima prikazanim u ovom radu.

S obzirom da bi povećanje pozitivnog naboja na ionu Mn trebalo povećati kiselost koordiniranih molekula vode,⁸⁴ identitet specija $Mn(IV)P$ moguće je obrazložiti vrijednostima konstanta disocijacije. Prema shemi 5.1, oksidacija $(H_2O)_2Mn(III)P^{5+}$ mogla bi biti popraćena opaženom dvostrukom deprotonacijom (odjeljak 4.4.2) samo ako je vrijednost $pK''_{a2} < 9$, što podrazumijeva da prilikom oksidacije $Mn(III)P$ u $Mn(IV)P$ dolazi do smanjenja vrijednosti konstante deprotonacije za čak 3 ili 4 jedinice ($pK_{a2}(MnTE-2-PyP) = 11,62$, odnosno $pK_{a2}(MnTE-3-PyP) = 12,70$, odjeljak 4.3.5). Prema tome, čini se da su specije eksperimentalno nedostupne u odabranim uvjetima diakva-, hidroksokva- i diokso-kompleksi $Mn(IV)P$.

Prema svim dobivenim rezultatima konstruiran je vjerodostojan model deprotonacije i redoks reakcija kompleksa $Mn(IV)/(III)/(II)P$ prikazan reakcijskom shemom 5.1, koja sadrži sve relevantne specije kompleksa MnP i ravnoteže koje ih povezuju. Horizontalne reakcije na shemi karakterizirane su dobivenim vrijednostima pK_a (odjeljak 4.3.5), dok su vertikalne reakcije karakterizirane vrijednostima formalnih redukcijskih potencijala prikazanih u tablici 5.1. Formalni redukcijski potencijali $E_1^{0'}$, $E_2^{0'}$ i $E_6^{0'}$ dobiveni su kombinacijom eksperimentalno određenih vrijednosti K_{ox} i $E^{0'}$ $\frac{[Mo(CN)_8]^{4-}}{[Mo(CN)_8]^{3-}}$, te eksperimentalno određenih vrijednosti K_{red} i poznate vrijednosti $E_{D,2H^+/H_2Asc}^{0'}$ (odjeljci 4.4.2 i 4.4.1). Najjednostavniji način snalaženja u predloženoj reakcijskoj shemi je računanje odgovarajućih vrijednosti Gibbsove energije, prema izrazima $\Delta G_a^{0'} = - R T \ln K_a$, odnosno $\Delta G^{0'} = - \nu F E^{0'}$, kao npr. $E_6^{0'} = \Delta G(F \rightleftharpoons K)/F = \{\Delta G^{0'}(D \rightleftharpoons K + 2H^+) + \Delta G^{0'}(D \rightleftharpoons E + H^+) + \Delta G^{0'}(E \rightleftharpoons F + H^+)\}/F$. Formalni potencijali svih eksperimentalno dostupnih redoks prijelaza prikazani su u tablici 5.2.



Shema 5.1. Kemijske ravnoteže karakteristične za opaženo ponašanje kompleksa MnP u vodenim otopinama. Direktno određene konstante ravnoteže ili potencijali prikazani su crnom bojom, indirektno određene parametri prikazani su plavom bojom, dok su eksperimentalno nedostupne specije i parametri označeni crvenom bojom.

Tablica 5.1. Formalni redukcijski potencijali, $E^{0'}$ vs. SHE, jedno-elektronskih redukcija prema shemi 5.1, dobiveni spektrofotometrijskim pH titracijama, $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $I = 2\text{ M}$ (NaClO_4).

formalni potencijal	MnTE-3-PyP ($E^{0'} \pm \sigma$) / V	MnTE-2-PyP ($E^{0'} \pm \sigma$) / V
$E_1^{0'}$	$-0,052 \pm 0,001$	$+0,145 \pm 0,001$
$E_2^{0'}$	$-0,080 \pm 0,001$	$+0,094 \pm 0,001$
$E_6^{0'}$	$+0,479 \pm 0,001$	$+0,578 \pm 0,001$

Vrijednosti konstanta disocijacije prikazane u tablici 4.2 (odjeljak 4.3.5) pokazuju postupno smanjenje vrijednosti pK_{a1} kompleksa MnTE-2-PyP povećanjem oksidacijskog broja središnjeg iona Mn. Povećanje kiselosti koordiniranih molekula vode najvjerojatnije je povezano s jačanjem veze Mn-O i posljedičnim slabljenjem veze O-H do kojeg dolazi povećanjem pozitivnog naboja na središnjem ionu. Male razlike u vrijednostima pK_{a1} kompleksa Mn(III)P i Mn(II)P vjerojatno su posljedica koordinacije dodatne molekule vode u kompleksima Mn(III)P. Niža vrijednost pK_a opažena za *orto* izomer u usporedbi s *meta* izomerom može se objasniti blizinom i jačim elektronakceptorskim efektom pozitivnih naboja na atomima dušika u piridilskim prstenovima *orto* izomera.

Tablica 5.2. Formalni redukcijski potencijali, E^0 vs. SHE, svih eksperimentalno dostupnih redoks parova prema shemi 1, dobiveni spektrofotometrijskim pH titracijama, $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $I = 2\text{ M}$ (NaClO_4).

$\text{Mn}^X/\text{Mn}^{X-1}$	redoks par	E^0 / V	
		MnTE-2-PyP	MnTE-3-PyP
Mn(III)/Mn(II)	D/B, H^+	-0,550	-0,764
	E, H^+ /A	+0,789	+0,632
	F, 2H^+ /A	+1,477	+1,384
	F, H^+ /B	+0,782	+0,671
Mn(IV)/Mn(III)	K, 2H^+ /D	+1,911	+1,916
	K, H^+ /E	+1,266	+1,231
	L, 3H^+ /D	+2,569	+2,624
	L, 2H^+ /E	+1,925	+1,940
	L, H^+ /F	+1,237	+1,189
Mn(IV)/Mn(II)	K/A, 2H^+	+1,028	+0,932
	L/A, 3H^+	+0,680	+0,575
	K/B, H^+	+1,357	+1,286
	K/B, 2H^+	+1,009	+0,930

Izmjereni termodinamički parametri (odjeljak 4.3.4) pokazuju da su sve reakcije deprotonacije popraćene znatnim smanjenjem entropije. Ukupne reakcijske entropije u najvećoj su mjeri rezultat hidratacijske entropije oslobođenog protona ($\Delta_{\text{hyd}}S(\text{H}^+) = -87,6\text{ J K}^{-1}\text{ mol}^{-1}$),⁸⁵ dok su vrijednosti promjena entropije povezanih s promjenama MnP pozitivne, u rasponu od ca. $+7\text{ J K}^{-1}\text{ mol}^{-1}$ do $+72\text{ J K}^{-1}\text{ mol}^{-1}$. Objašnjenje je moguće pronaći u pretpostavljenoj slabijoj hidrataciji deprotoniranih kompleksa MnP uzrokovanoj smanjenjem ukupnog naboja nakon otpuštanja protona. Kao što je uočeno za kompleks MnTnBu-2-PyP,³⁸ dobivene vrijednosti reakcijskih entalpija deprotonacije Mn(IV)P približno odgovaraju reakcijskim entalpijama druge deprotonacije Mn(III)P, ali sve dobivene vrijednosti reakcijskih entalpija nalaze se unutar eksperimentalne pogreške, pa je očigledno da taj termodinamički parametar nije primjenjiv u asignaciji specija koje sudjeluju u deprotonaciji Mn(IV)P.

Promatranjem vrijednosti formalnog potencijala prikazanih u tablici 5.1 moguće je uočiti da su formalni redukcijski potencijali redoks parova Mn(IV)P/Mn(III)P egzergoni, dok formalni potencijal redoks prijelaza Mn(III)P/Mn(II)P mijenja predznak iz pozitivnog (egzergonog) za MnTE-2-PyP u negativni (endergoni) za MnTE-3-PyP, kao rezultat pomicanja supstituenata na piridilskim prstenovima. Ova je pojava rezultat veće razdvojenosti elektronakceptorskih pozitivnih naboja na piridilskom supstituentu *meta* izomera i središnjeg iona Mn, čime se

smanjuje elektronska deficijencija Mn, odnosno otežava njegov prijem elektrona. Ovi su rezultati u skladu s opaženim “*orto*-efektom” na metilnim izomerima MnTM-PyP za redukciju Mn(III)P, ali su znatno umanjeni u slučaju redoks prijelaza Mn(IV)P/Mn(III)P zbog poništavajućeg učinka promjena deprotonacijskih konstanta pK_{a1} i pK_{a2} .⁸⁶ Vrijednosti formalnog potencijala prikazane u tablici 5.1 razlikuju se od prethodno objavljenih vrijednosti dobivenih cikličkom voltametrijom.²² Te razlike moguće je pripisati različitoj eksperimentalnoj metodologiji i referentne kalibraciji elektrode. Međutim, relativne razlike u dobivenim vrijednostima E^0 vs. SHE odgovaraju prethodnim istraživanjima, te su svi zaključci temeljeni na njima valjani.

Nadalje, pregledom termodinamičkih parametara redoks procesa prikazanih u shemi 5.1 (tablice 5.3 i 5.4), moguće je opaziti da su svi redoks parovi koji uključuju izmjenu dva protona karakterizirani pozitivnom promjenom entropije, najvjerojatnije povezanom s dehidratacijom protona. Opažanje da pozitivne promjene opadaju u redukcijama koje uključuju jedan proton, a osobito u redukcijama pri kojima ne dolazi do izmjene protona, potvrđuje ovu pretpostavku. Također je moguće opaziti da je pri sobnoj temperaturi primarni pokretač redukcije promjena reakcijske entalpije. Uzevši u obzir da su entalpije nastajanja $H^+(aq)$ i e^- dogovorno izjednačene s nulom pri svim temperaturama, računane reakcijske entalpije odgovaraju transformacijama specija kompleksa MnP. Smanjenje entalpije posljedica je egzotermnog vezanja jednog ili dva protona na okso-ligand ili povećane hidratacije kompleksa povećanjem ukupnog naboja od +4 na +5 oksidacijom Mn(III)P. Termodinamika vezanja protona moguće je izbjeći razmatranjem reakcija $(O)(H_2O)Mn(IV)TE-2-PyP^{4+}(aq) + e^- \rightarrow (O)(H_2O)Mn(III)TE-2-PyP^{3+}(aq)$ i $(O)(H_2O)Mn(IV)TE-3-PyP^{4+}(aq) + e^- \rightarrow (O)(H_2O)Mn(III)TE-3-PyP^{3+}(aq)$. Izračunani termodinamički parametri za te reakcije iznose $\Delta H^{0'} = -85 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\Delta S^{0'} = -98 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$, odnosno $\Delta H^{0'} = -72 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\Delta S^{0'} = -86 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ (tablica 5.3). Promjene entropije protivne su spontanom odvijanju obiju navedenih reakcija, ali povećanje entalpije uzrokovano smanjenom hidratacijom kompleksa uslijed smanjenja pozitivnog naboja daleko nadilazi egzotermni elektronski afinitet kationskih kompleksa Mn(IV)P.

Tablica 5.3. Termodinamički parametri eksperimentalno dostupnih redoks parova kompleksa Mn(IV)P/Mn(III)P prema shemi 5.1, $I = 2$ M (NaClO₄). Vrijednosti su računane iz formalnih potencijala, $E^{0'}$ vs. SHE.

redoks par	Parametar ^{a,b}	
	$\Delta H^{0'} \pm \sigma$	$\Delta S^{0'} \pm \sigma$
$(O)(H_2O)Mn(IV)TE-2-PyP^{4+} + 2H^+ + e^- \rightarrow (H_2O)_2Mn(III)TE-2-PyP^{5+}$	-182 ± 5	$+8 \pm 18$
$(O)(H_2O)Mn(IV)TE-2-PyP^{4+} + H^+ + e^- \rightarrow (OH)(H_2O)Mn(III)TE-2-PyP^{4+}$	-133 ± 8	-36 ± 21
$(O)(H_2O)Mn(IV)TE-2-PyP^{4+} + e^- \rightarrow (O)(H_2O)Mn(III)TE-2-PyP^{3+}$	-85 ± 11	-98 ± 32
$(O)(OH)Mn(IV)TE-2-PyP^{4+} + 2H^+ + e^- \rightarrow (OH)(H_2O)Mn(III)TE-2-PyP^{5+}$	-185 ± 11	$+1 \pm 32$
$(O)(H_2O)Mn(IV)TE-3-PyP^{4+} + 2H^+ + e^- \rightarrow (H_2O)_2Mn(III)TE-3-PyP^{5+}$	-174 ± 5	$+37 \pm 16$
$(O)(H_2O)Mn(IV)TE-3-PyP^{4+} + H^+ + e^- \rightarrow (OH)(H_2O)Mn(III)TE-3-PyP^{4+}$	-123 ± 8	-14 ± 25
$(O)(H_2O)Mn(IV)TE-3-PyP^{4+} + e^- \rightarrow (O)(H_2O)Mn(III)TE-3-PyP^{3+}$	-72 ± 11	-86 ± 36
$(O)(OH)Mn(IV)TE-3-PyP^{4+} + 2H^+ + e^- \rightarrow (OH)(H_2O)Mn(III)TE-3-PyP^{5+}$	-173 ± 14	$+45 \pm 44$

^a Reakcijske entalpije izražene su u kJ mol⁻¹.

^b Reakcijske entropije izražene su u J K⁻¹ mol⁻¹.

Tablica 5.4. Termodinamički parametri eksperimentalno dostupnih redoks parova kompleksa Mn(IV)P/Mn(III)P prema shemi 5.1, $I = 2$ M (NaClO₄). Vrijednosti su računane iz apsolutnih potencijala, E^{*} .

redoks par	Parametar ^{a,b}	
	$\Delta H^{*'} \pm \sigma$	$\Delta S^{*'} \pm \sigma$
$(O)(H_2O)Mn(IV)TE-2-PyP^{4+} + 2H^+ + e^- \rightarrow (H_2O)_2Mn(III)TE-2-PyP^{5+}$	-606 ± 2	21 ± 7
$(O)(H_2O)Mn(IV)TE-2-PyP^{4+} + H^+ + e^- \rightarrow (OH)(H_2O)Mn(III)TE-2-PyP^{4+}$	-557 ± 5	-23 ± 10
$(O)(H_2O)Mn(IV)TE-2-PyP^{4+} + e^- \rightarrow (O)(H_2O)Mn(III)TE-2-PyP^{3+}$	-509 ± 8	-85 ± 21
$(O)(OH)Mn(IV)TE-2-PyP^{4+} + 2H^+ + e^- \rightarrow (OH)(H_2O)Mn(III)TE-2-PyP^{5+}$	-609 ± 8	14 ± 21
$(O)(H_2O)Mn(IV)TE-3-PyP^{4+} + 2H^+ + e^- \rightarrow (H_2O)_2Mn(III)TE-3-PyP^{5+}$	-598 ± 4	50 ± 12
$(O)(H_2O)Mn(IV)TE-3-PyP^{4+} + H^+ + e^- \rightarrow (OH)(H_2O)Mn(III)TE-3-PyP^{4+}$	-547 ± 7	-1 ± 21
$(O)(H_2O)Mn(IV)TE-3-PyP^{4+} + e^- \rightarrow (O)(H_2O)Mn(III)TE-3-PyP^{3+}$	-496 ± 10	-73 ± 32
$(O)(OH)Mn(IV)TE-3-PyP^{4+} + 2H^+ + e^- \rightarrow (OH)(H_2O)Mn(III)TE-3-PyP^{5+}$	-597 ± 13	58 ± 40

^a Reakcijske entalpije izražene su u kJ mol⁻¹.

^b Reakcijske entropije izražene su u J K⁻¹ mol⁻¹.

Elektronski afiniteti specija $(O)(H_2O)Mn(IV)TE-m-PyP^{4+}(aq)$ mogu se računati iz razlika promjena apsolutnih reakcijskih entalpija (tablica 5.4) i promjena hidratacijskih entalpija kao posljedica redukcije kompleksnih iona. Promjene hidratacijskih entalpija specija $(O)(H_2O)Mn(IV)TE-m-PyP^{4+}(aq)$ računane su prema modificiranoj Bornovoj jednadžbi ⁸⁷⁻⁸⁸

pomoću vrijednosti polumjera vodenih šupljina specija $(O)(H_2O)Mn(III)TE-2-PyP^{4+}(aq)$ i $(O)(H_2O)Mn(III)TE-3-PyP^{4+}(aq)$ dobivenih kronokulometrijski ($r = 18,5 \text{ \AA}$, odnosno $r = 22,3 \text{ \AA}$, tablica 4.19), uz pretpostavku da rigidnost porfirinskog prstena onemogućuje značajnu promjenu polumjera šupljina oksidacijom ili redukcijom kompleksa. Dobivene vrijednosti promjene hidratacijske entalpije za redukciju $Mn(IV)P/Mn(III)P$ iznose ca. 88 kJ mol^{-1} , odnosno 73 kJ mol^{-1} . Potom je moguće procijeniti elektronski afinitet $\approx 600 \text{ kJ mol}^{-1}$, što je usporedivo s prvom ionizacijskom energijom Mn ($717,4 \text{ kJ mol}^{-1}$).⁸⁹⁻⁹⁰ Taj rezultat dovodi do zaključka da je pozitivni naboj na središnjem ionu Mn u specijama $(O)(H_2O)Mn(IV)TE-m-PyP^{4+}(aq)$ uistinu većim dijelom neutraliziran koordiniranim okso- i porfirinato-lignadima.

Spektri protoniranih i di-deprotoniranih specija oba diakva kompleksa $Mn(III)P$ pokazuju intenzivnu Soretovu apsorpcijsku vrpce između 407 i 455 nm, dok je na spektrima hidroakva kompleksa (mono-deprotoniranih specija) moguće opaziti i sekundarni maksimum u tom području (tablica 4.3, odjeljak 4.3.5). Takvo opažanje upućuje na smanjenje molekularne simetrije hidroakva kompleksa koje nije posve moguće pripisati prostornoj orijentaciji hidroakva liganda s obzirom na to da sličan efekt nije opažen za komplekse $(O)(OH)Mn(IV)TE-m-PyP^{3+}$. U slučaju da prostorna orijentacija hidroakva liganda zaista uzrokuje takav učinak, spektri di-deprotoniranih specija $Mn(III)P$ ukazuju na preferenciju oksoakva prema dihidroakva prototropnoj strukturi ovih kompleksa. Deprotonacijom akva kompleksa MnP dolazi do hipsokromnog pomaka apsorpcijskih maksimuma što je u skladu s očekivanim povećanjem elektronske gustoće na porfirinskom prstenu i posljedičnog povećanja konjugacije i tranzicijske energije elektrona.

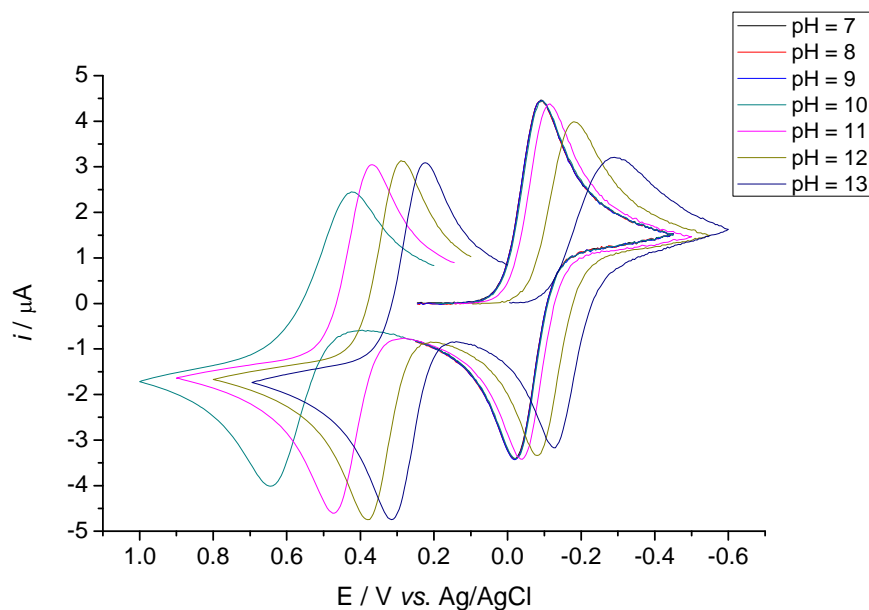
Opaženi apsorpcijski maksimumi akva $Mn(II)P$ kompleksa pokazuju batokromni pomak pri oksidaciji u $Mn(III)P$ najvjerojatnije uslijed povećane sposobnosti privlačenja elektrona iona $Mn(III)$ koja uzrokuje smanjenje elektronske gustoće na porfirinskom prstenu. Posljedično dolazi do smanjenja konjugacije i smanjenja tranzicijske energije elektrona u porfirinskom prstenu što dovodi do crvenog pomaka maksimuma apsorbancije $Mn(III)P$. S druge strane, prilikom oksidacije okso-akva specija $Mn(III)P$ u $Mn(IV)P$ dolazi do hipsokromnog pomaka, što navodi na zaključak kako vjerojatno postoje i drugi značajni faktori koji utječu na energijsku razliku HOMO i LUMO orbitala porfirinskih kompleksa.

Rezultati elektrokemijskih mjerenja redoks parova $Mn(III)P/Mn(II)P$ (odjeljak 4.4.4) pokazuju da deprotonacijom dolazi do smanjenja konstante brzine heterogenog elektronskog prijelaza kompleksa $MnTE-2-PyP$ za čitav red veličine (od $k_{app}^0 = 2,18 \times 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$ pri $pH = 7,49$ do

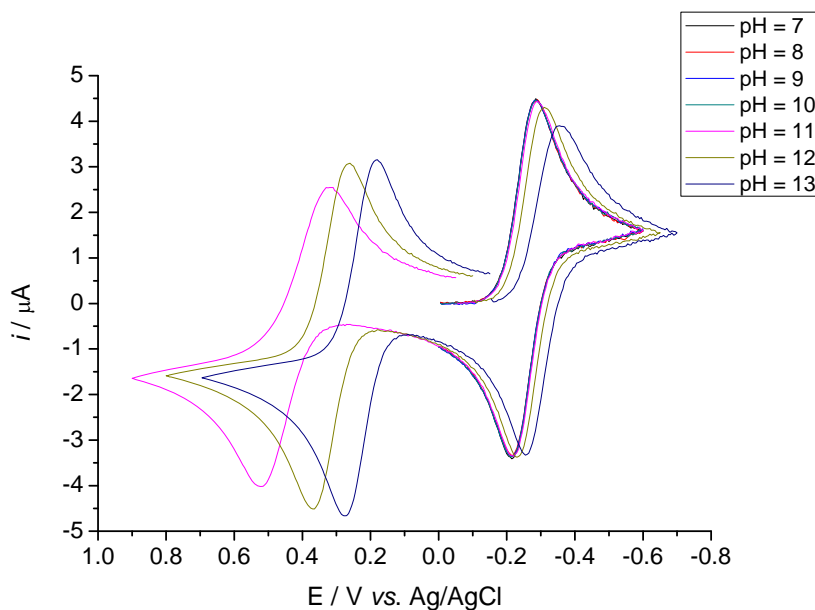
$k_{app}^0 = 0,19 \times 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$ pri pH = 13,00, tablica 4.13), vjerojatno uslijed smanjenja ukupnog pozitivnog naboja kompleksa i formalnog redukcijskog potencijala. Utjecaj deprotonacije na vrijednost k_{app}^0 kompleksa MnTE-3-PyP mnogo je manje izražen (od $k_{app}^0 = 0,71 \times 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$ pri pH = 7,52 do $k_{app}^0 = 0,65 \times 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$ pri pH = 13,00, tablica 4.13), što se vjerojatno može pripisati fleksibilnosti strukture *meta* izomera koja olakšava pristup redoks aktivnog mjesta površini elektrode, ali i slabijim elektronakceptorskim efektom pozitivnih naboja na atomima dušika u piridilskim prstenovima *meta* izomera. Vrijednost k_{app}^0 elektronskog prijelaza Mn(IV)/Mn(III) kompleksa MnTE-2-PyP nešto je niža u usporedbi s elektronskim prijelazom Mn(III)/Mn(II) i manje se mijenja s promjenom pH otopine (od $k_{app}^0 = 1,15 \times 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$ pri pH = 11,32 do $k_{app}^0 = 0,62 \times 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$ pri pH = 13,00, tablica 4.13), što se najvjerojatnije može pripisati stabilizirajućem učinku okso liganda.

Oba elektronska prijelaza karakterizirana su vrijednostima katodnog koeficijenta prijelaza $\alpha_{app} > 0.5$, što upućuje na asimetričnost njihove energijske barijere. Prilikom redukcije kompleksa Mn(III)P u Mn(II) dolazi do spomenute promjene geometrije kompleksa iz oktaedralne u približno kvadratno piramidalnu, dok prilikom redukcije kompleksa Mn(IV) u Mn(III)P u promatranom rasponu vrijednosti pH najvjerojatnije dolazi do supstitucije okso liganda hidroksa ili akva ligandom, što bi moglo biti uzrokom opažene energijske asimetrije.

Elektrokemijsko ponašanje otopina kompleksa MnP u ovisnosti o pH prema modelu na shemi 5.1 uspješno je simulirano u programu DigiElch i prikazano na slikama 5.1 i 5.2. Za simulacije su korištene vrijednosti konstanata deprotonacije iz tablice 4.2, vrijednosti formalnih potencijala $E_1^{0'}$ i $E_6^{0'}$ iz tablice 5.1., te vrijednosti elektrokemijskih parametara α_{app} i k_{app}^0 iz tablica 4.13 i 4.14. Vrijednosti eksperimentalno nedostupnih konstanata deprotonacije iz sheme 5.1 postavljene su minimalno 1 jedinicu pH izvan područja obuhvaćenog spektrofotometrijskim mjerenjima u odjeljcima 4.3, 4.4.1 i 4.4.2, odnosno ($pK'_{a2} = 14$, $pK_{a3} = 14$, $pK_{a4} = 15$, $pK''_{a1} = 5$, $pK''_{a2} = 6$, $pK''_{a4} = 14$), uz pretpostavku da bi deprotonacije manje udaljene od mjerenog područja ipak morale biti uočene prilikom mjerenja, s obzirom da prema jednadžbi (3.15) vrijednost pH = $pK_a - 1$ odgovara molnom udjelu deprotonirane specije $\approx 10\%$, odnosno vrijednost pH = $pK_a + 1$ odgovara molnom udjelu protonirane specije od $\approx 10\%$. Također je korištena literaturna vrijednosti difuzijskog koeficijenta $H^+(aq)^{91}$, $D_{H^+(aq)} = 9,3 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, površina elektrode definirana je kao $A = 0,07 \text{ cm}^2$, dok su konstante brzine protonacije procijenjene kao $k_d = 10^{10} \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$.⁹²



Slika 5.1. Simulacija elektrokemijskog ponašanja otopina 0,5 mM MnTE-2-PyP u ovisnosti o pH.



Slika 5.2. Simulacija elektrokemijskog ponašanja otopina 0,5 mM MnTE-3-PyP u ovisnosti o pH.

Prema shemi 5.1 moguće je izvesti Nernstove jednadžbe za ovisnost formalnog potencijala oba elektronska prijelaza, $E_{app}^{0'}$, o vrijednosti pH otopine pri 25 °C, prikazane izrazima (5.1) i (5.2) u kojima su $E_1^{0'}$ i $E_4^{0'}$ formalni potencijali redoks prijelaza protoniranih specija Mn(III)/(II)P, odnosno Mn(IV)/(III)P, a f_X nazivnici u izrazima za udjel pojedine specije u ovisnosti o pH.⁶⁸

$$E_{\text{app}}^{0'} = E_1^{0'} - 0,05916 \log \frac{f_{\text{Mn(III)P}}}{[\text{H}^+]^2 f_{\text{Mn(II)P}}} \quad (5.1)$$

$$E_{\text{app}}^{0'} = E_4^{0'} - 0,05916 \log \frac{f_{\text{Mn(IV)P}}}{f_{\text{Mn(III)P}}} \quad (5.2)$$

$$f_{\text{Mn(II)P}} = [\text{H}^+]^2 + [\text{H}^+] K'_{a1} + K'_{a1} K'_{a2} \quad (5.3)$$

$$f_{\text{Mn(III)P}} = [\text{H}^+]^4 + [\text{H}^+]^3 K_{a1} + [\text{H}^+]^2 K_{a1} K_{a2} + [\text{H}^+] K_{a1} K_{a2} K_{a3} + K_{a1} K_{a2} K_{a3} K_{a4} \quad (5.4)$$

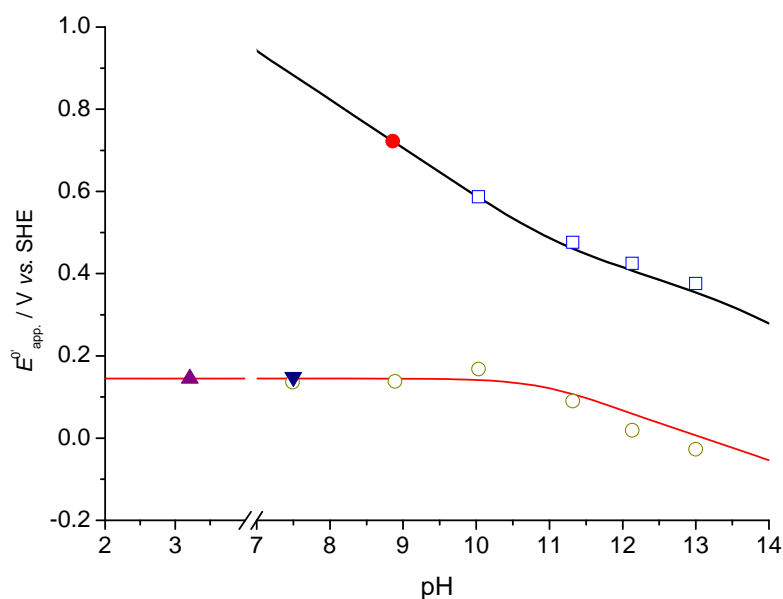
$$f_{\text{Mn(IV)P}} = [\text{H}^+]^4 + [\text{H}^+]^3 K''_{a1} + [\text{H}^+]^2 K''_{a1} K''_{a2} + [\text{H}^+] K''_{a1} K''_{a2} K''_{a3} + K''_{a1} K''_{a2} K''_{a3} K''_{a4} \quad (5.5)$$

S obzirom da vrijednost $E_4^{0'}$ nije eksperimentalno dostupna, formalni potencijal redoks para Mn(IV)/(III)P u ovisnosti o pH moguće je iskazati prema poznatom formalnom potencijalu $E_{\text{K},2\text{H}^+/\text{D}}^{0'}$ (tablica 5.2) pomoću izraza (5.6) u kojem su vrijednosti f_X definirane jednadžbama (5.4) i (5.7).

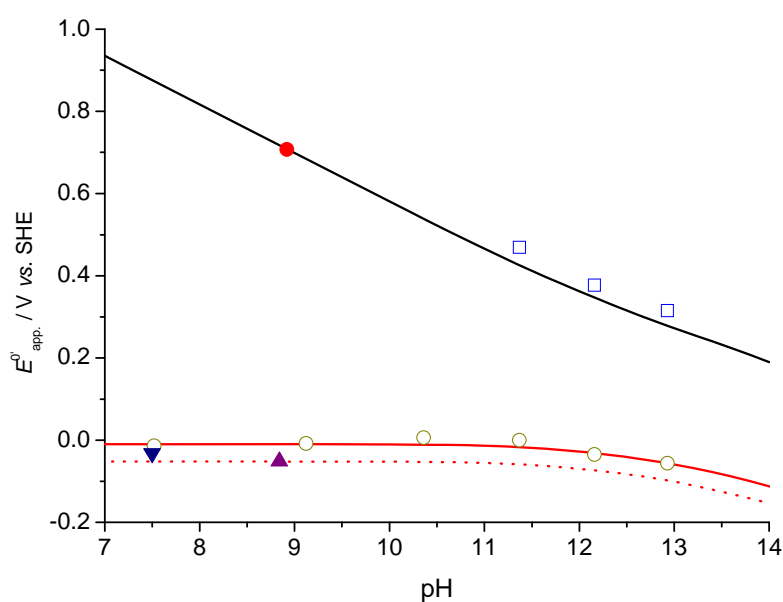
$$E_{\text{app}}^{0'} = E_{\text{K},2\text{H}^+/\text{D}}^{0'} - 0,05916 \log \frac{f_{\text{Mn(IV)P}}}{[\text{H}^+]^2 f_{\text{Mn(III)P}}} \quad (5.6)$$

$$f_{\text{Mn(IV)P}} = [\text{H}^+]^2 + [\text{H}^+] K''_{a3} + K''_{a3} K''_{a4} \quad (5.7)$$

Usporedba vrijednosti formalnih potencijala dobivenih izrazima (5.1) i (5.6) i eksperimentalnih vrijednosti iz odjeljaka 4.4.1, 4.4.2, 4.4.4 i 4.4.5 prikazana je na slikama 5.3 i 5.4. Za simulacije su korištene vrijednosti konstanta deprotonacije kao u simulacijama na slikama 5.1 i 5.2.



Slika 5.3. Usporedba vrijednosti formalnih potencijala MnTE-2-PyP dobivenih izrazima (5.1), (—), i (5.7), (—), i eksperimentalnih vrijednosti: (●) oksidacija Mn(III)P oktacijanomolibdatom(V) (odjeljak 4.4.2), (□) ciklička voltametrijia redoks para Mn(IV)P/Mn(III)P (tablica 4.13), (▲) redukcija Mn(III)P askorbinskom kiselinom (odjeljak 4.4.1), (○) ciklička voltametrijia redoks para Mn(III)P/Mn(II)P (tablica 4.13), (▼) termodinamika elektroredukcije Mn(III)P (odjeljak 4.4.5).



Slika 5.4. Usporedba vrijednosti formalnih potencijala MnTE-3-PyP dobivenih izrazima (5.1), (—), i (5.7), (—), i eksperimentalnih vrijednosti: (●) oksidacija Mn(III)P oktacijanomolibdatom(V) (odjeljak 4.4.2), (□) ciklička voltametrijia redoks para Mn(IV)P/Mn(III)P (tablica 4.13), (▲) redukcija Mn(III)P askorbinskom kiselinom (odjeljak 4.4.1), (○) ciklička voltametrijia redoks para Mn(III)P/Mn(II)P (tablica 4.13), (▼) termodinamika elektroredukcije Mn(III)P (odjeljak 4.4.5), (·····) simulacija formalnog potencijala prema izrazu (5.1) uz vrijednost $E_1^{0'} = 0,01 \text{ V vs. SHE}$.

Eksperimentalne vrijednosti formalnih potencijala obaju kompleksa MnP dobro se podudaraju s vrijednostima predviđenima shemom 5.1, odnosno izrazima (5.1) i (5.6). Do manjih odstupanja najvjerojatnije dolazi zbog različitih eksperimentalnih uvjeta u elektrokemijskim pokusima i spektrofotometrijskim titracijama. Vrijednosti konstanta deprotonacije kompleksa MnP pokazuju značajnu ovisnost o ionskoj jakosti otopine,³⁸ a elektrokemijski pokusi i titracije izvršene su u različitim elektrolitima (0,1 M NaCl i 2 M NaClO₄). Najznačajnije je odstupanje vrijednosti $E_1^{0'}$ za MnTE-3-PyP dobivenih redukcijom s askorbinskom kiselinom i elektrokemijskim pokusima (slika 5.4). S obzirom da u području pH < 10 redukcija Mn(III)P ne uključuje izmjenu protona jer u otopini dominiraju protonirane specije Mn(III)P i Mn(II)P (slike 4.42 i 4.43), ovo odstupanje nije posljedica različite ionske jakosti, već je vjerojatnije da u tom području pH ipak u određenoj mjeri dolazi do razgradnje dehidroaskorbinske kiseline, što pomiče ravnotežu opisanu u odjeljku 4.4.1, a posljedično se vrijednost formalnog potencijala askorbinske kiseline pomiče prema pozitivnijim vrijednostima od onih predviđenih jednadžbom (4.33).

Elektrokemijskim mjerenjima također su određeni difuzijski koeficijenti i veličina kompleksa pri različitim vrijednostima pH. Niža vrijednost difuzijskog koeficijenta kompleksa MnTE-2-PyP vjerojatno je posljedica jače hidratacije uslijed povećane elektronske deficijencije središnjeg iona Mn. S druge strane, procijenjena vrijednost polumjera vodenih šupljina veća je za kompleks MnTE-3-PyP, kao posljedica veće razdvojenosti piridilskih supstituenata. Veličina vodenih šupljina obaju kompleksa smanjuje se deprotonacijom, što je u skladu s neutralizacijom pozitivnog naboja kompleksa i smanjenom hidratacijom specija MnP.

6. Zaključci

- Potvrđeno je postojanje sljedećih specija u vodenim otopinama kompleksa MnP, u rasponu vrijednosti pH 2-13: $(\text{H}_2\text{O})\text{Mn(II)TE-}m\text{-PyP}^{4+}$, $(\text{HO})\text{Mn(II)TE-}m\text{-PyP}^{3+}$, $(\text{H}_2\text{O})_2\text{Mn(III)TE-}m\text{-PyP}^{5+}$, $(\text{H}_2\text{O})(\text{HO})\text{Mn(III)TE-}m\text{-PyP}^{4+}$, $(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn(III)TE-}m\text{-PyP}^{3+}$, $(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn(IV)TE-}m\text{-PyP}^{4+}$ i $(\text{O})(\text{HO})\text{Mn(IV)TE-}m\text{-PyP}^{3+}$ ($m=2, 3$).
- Pronađeni su uvjeti za reproducibilnu redukciju ili oksidaciju kompleksa MnP i stabilnost specija provjerena je spektroelektrokemijski.
- Određene su sve konstante disocijacije koje povezuju navedene specije u navedenom rasponu vrijednosti pH.
- Određeni su termodinamički parametri navedenih konstanta disocijacije.
- Određeni su apsolutni formalni reduksijski potencijali i formalni reduksijski potencijali prema standardnoj vodikovoj koji povezuju navedene specije u navedenom rasponu vrijednosti pH.
- Određeni su termodinamički parametri navedenih formalnih reduksijskih potencijala.
- Određeni su elektrokemijski parametri elektronskih prijelaza navedenih specija i potvrđeni računalnim simulacijama mjerenja.
- Predložena je potpuna shema ponašanja kompleksa MnP u vodenim otopinama navedenom rasponu vrijednosti pH, s obzirom na navedene disocijacijske i redoks ravnoteže.
- Elektrokemijskim mjerenjima određeni su difuzijski koeficijenti specija MnP i procijenjene veličine njihovih vodenih šupljina.

7. Literatura

1. D. Lahaye, K. Muthukumaran, C.H. Hung, D. Gryko, J.S. Reboucas, I. Spasojevic, I. Batinic-Haberle, J.S. Lindsey, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **15** (2007) 7066-7086.
2. G. Ferrer-Sueta, D. Vitturi, I. Batinic-Haberle, I. Fridovich, S. Goldstein, G. Czapski, R. Radi, *Journal of Biological Chemistry*, **278** (2003) 27432-27438.
3. D. Salvemini, D.P. Riley, S. Cuzzocrea, *Nature Reviews Drug Discovery*, **1** (2002) 367-374.
4. C. Szabó, H. Ischiropoulos, R. Radi, *Nature Reviews Drug Discovery*, **6** (2007) 662-680.
5. I. Spasojevic, Y. Chen, T.J. Noel, P. Fan, L. Zhang, J.S. Reboucas, D.K. St Clair, I. Batinic-Haberle, *Free Radical Biology & Medicine*, **45** (2008) 943-949.
6. R. Kachadourian, I. Batinić-Haberle, I. Fridovich, *Inorganic Chemistry*, **38** (1999) 391-396.
7. C.K. Vance, A.F. Miller, *Journal of the American Chemical Society*, **120** (1998) 461-467.
8. I. Batinic-Haberle, I. Spasojevic, R.D. Stevens, B. Bondurant, A. Okado-Matsumoto, I. Fridovich, Z. Vujaskovic, M.W. Dewhirst, *Dalton Transactions* (2006) 617-624.
9. I. Spasojević, I. Batinić-Haberle, J.S. Rebouças, Y.M. Idemori, I. Fridovich, *Journal of Biological Chemistry*, **278** (2003) 6831-6837.
10. I. Batinić-Haberle, I. Spasojević, P. Hambright, L. Benov, A.L. Crumbliss, I. Fridovich, *Inorganic Chemistry*, **38** (1999) 4011-4022.
11. I. Batinic-Haberle, L. Benov, I. Spasojevic, I. Fridovich, *J Biol Chem*, **273** (1998) 24521-24528.
12. I. Kos, J.S. Reboucas, G. DeFreitas-Silva, D. Salvemini, Z. Vujaskovic, M.W. Dewhirst, I. Spasojevic, I. Batinic-Haberle, *Free Radical Biology and Medicine*, **47** (2009) 72-78.
13. A. Okado-Matsumoto, I. Batinić-Haberle, I. Fridovich, *Free Radical Biology and Medicine*, **37** (2004) 401-410.
14. G. Ferrer-Sueta, I. Batinic-Haberle, I. Spasojevic, I. Fridovich, R. Radi, *Chemical Research in Toxicology*, **12** (1999) 442-449.
15. Z.N. Rabbani, I. Spasojevic, X. Zhang, B.J. Moeller, S. Haberle, J. Vasquez-Vivar, M.W. Dewhirst, Z. Vujaskovic, I. Batinic-Haberle, *Free Radical Biology and Medicine*, **47** (2009) 992-1004.
16. B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge, *Free Radicals in biology and medicine*. 4th ed 2007, Oxford, Oxford University Press.
17. D.S. Warner, H. Sheng, I. Batinić-Haberle, *Journal of Experimental Biology*, **207** (2004) 3221-3231.
18. I. Batinic-Haberle, J.S. Reboucas, I. Spasojević, *Antioxidants and Redox Signaling*, **13** (2010)
19. D. Weinraub, P. Peretz, M. Faraggi, *Journal of Physical Chemistry*, **86** (1982) 1839-1842.
20. J.M. Pasternack, B. Halliwell, *Journal of the American Chemical Society*, **101** (1979) 1026-1031.
21. I. Batinić-Haberle, L. Benov, I. Spasojević, I. Fridovich, *Journal of Biological Chemistry*, **273** (1998) 24521-24528.

22. I. Batinić-Haberle, I. Spasojević, R.D. Stevens, P. Hambright, I. Fridovich, *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* (2002) 2689-2696.
23. I. Batinić-Haberle, S.I. Liochev, I. Spasojević, I. Fridovich, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **343** (1997) 225-233.
24. G. DeFreitas-Silva, J.S. Reboucas, I. Spasojevic, L. Benov, Y.M. Idemori, I. Batinic-Haberle, *Arch Biochem Biophys*, **477** (2008) 105-112.
25. I. Kos, L. Benov, I. Spasojevic, J.S. Reboucas, I. Batinic-Haberle, *J Med Chem*, **52** (2009) 7868-7872.
26. I. Spasojevic, I. Batinic-Haberle, *Inorganica Chimica Acta*, **317** (2001) 230-242.
27. J.S. Rebouças, I. Spasojević, D.H. Tjahjono, A. Richaud, F. Méndez, L. Benov, I. Batinić-Haberle, *Dalton Transactions* (2008) 1233-1242.
28. I. Batinić-Haberle, I. Spasojević, R.D. Stevens, P. Hambright, P. Neta, A. Okado-Matsumoto, I. Fridovich, *Dalton Transactions* (2004) 1696-1702.
29. I. Spasojevic, I. Batinic-Haberle, R.D. Stevens, P. Hambright, A.N. Thorpe, J. Grodkowski, P. Neta, I. Fridovich, *Inorganic Chemistry*, **40** (2001) 726-739.
30. J.S. Reboucas, M.E. De Carvalho, Y.M. Idemori, *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, **6** (2002) 50-57.
31. I. Batinić-Haberle, I. Spasojević, H.M. Tse, A. Tovmasyan, Z. Rajić, D.K.S. Clair, Ž. Vujasković, M.W. Dewhirst, J.D. Piganelli, *Amino Acids*, (2010), u tisku.
32. R.F. Pasternack, E.J. Gibbs, A.C. Villafranca, *Biochemistry*, **22** (1983) 2406-2414.
33. R.F. Pasternack, E.J. Gibbs, A.C. Villafranca, *Biochemistry*, **22** (1983) 5409-5417.
34. F.C. Chen, S.H. Cheng, C.H. Yu, M.H. Liu, Y.O. Su, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **474** (1999) 52-59.
35. A. Harriman, *Dalton Transactions* (1984) 141-146.
36. S. Jeon, T.C. Bruice, *Inorganic Chemistry*, **31** (1992) 4843-4848.
37. R.D. Arasasingham, T.C. Bruice, *Journal of the American Chemical Society*, **113** (1991) 6095-6103.
38. A. Budimir, T. Šmuc, T. Weitner, I. Batinic-Haberle, M. Biruš, *Journal of Coordination Chemistry*, **63** (2010) 2750-2765.
39. P.W. Atkins, M.J. Clugston, *Načela fizikalne kemije* 1992, Zagreb.
40. P.W. Atkins, *Physical Chemistry*. 6th ed 1998, Oxford, Oxford University Press.
41. I. Filipović, S. Lipanović, *Opća i anorganska kemija, I. dio* 1991, Zagreb, Školska knjiga.
42. I. Piljac, *Elektroanalitičke metode* 1995, Zagreb.
43. I. Rubinstein, *Physical electrochemistry: principles, methods, and applications* 1995, New York, Marcel Dekker, Inc.
44. S. Trassati, *Pure and Applied Chemistry*, **58** (1986) 955-966.
45. A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical methods - Fundamentals and Applications* 2001, New York, John Wiley & Sons, Inc.
46. P.T. Kissinger, W.R. Heineman, *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry* 1996, New York, Marcel Dekker, Inc.
47. D.T. Sawyer, A. Sobkowiak, J.L. Roberts, *Electrochemistry for Chemists* 1995, New York, John Wiley & Sons, Inc.
48. *Electrochemistry Fundamentals*. [pristupljeno 2010., na adresi <http://www.cheng.cam.ac.uk/research/groups/electrochem/teaching.html>].
49. C.G. Zoski, *Handbook of Electrochemistry* 2007, Amsterdam, Elsevier.
50. R.S. Nicholson, *Analytical Chemistry*, **37** (1965) 1351-1955.
51. H. Matsuda, Y.Z. Ayabe, *Zeitschrift für Elektrochemie*, **59** (1955) 494-503.
52. C.M.A. Brett, A.M. Oliveira Brett, *Electrochemistry Principles, Methods and Applications* 1994, New York, Oxford University Press, Inc.

53. A.W. Bott, W.R. Heineman, *Current Separations*, **20** (2004) 121-126.
54. M. Biruš, *Spektroskopija* 1995, Zagreb.
55. D.A. Skoog, D.M. West, F.J. Holler, *Osnove analitičke kemije* 1999, Zagreb.
56. K. Sauer, Ed. *Biochemical Spectroscopy*. Methods in Enzymology. Vol. 246. 1995, San Diego, Academic Press.
57. G.W. Gray, J.T. Spence, *Inorganic Chemistry*, **10** (1971) 2751-2755.
58. W.R. Bucknall, W. Wardlaw, *Journal of the Chemical Society*, (1927) 2981-2992.
59. P. Gans, B. O'Sullivan, *Talanta*, **51** (2000) 33-37.
60. H. Gampp, M. Maeder, C.J. Meyer, A.D. Zuberbühler, *Talanta*, **33** (1986) 943-951.
61. H. Gampp, M. Maeder, C.J. Meyer, A.D. Zuberbühler, *Talanta*, **32** (1985) 95-101.
62. H. Gampp, M. Maeder, C.J. Meyer, A.D. Zuberbühler, *Talanta*, **32** (1985) 251-264.
63. M. Maeder, Y.-M. Neuhold, *Practical Data Analysis in Chemistry* 2007, Amsterdam, Elsevier B.V.
64. M. Rudolph, *DigiElch*. 2006, ElchSoft: Am Kötschauer Weg 7, 99510 Kleinromstedt, Njemačka.
65. A. Harriman, G. Porter, *Faraday Transactions* (1979) 1532-1542.
66. A. Harriman, G. Porter, *Faraday Transactions* (1979) 1543-1552.
67. B. Gonzalez, J. Kouba, S. Yee, C.A. Reed, J.F. Kirner, W.R. Scheidt, *Journal of the American Chemical Society*, **97** (1975) 3247-3249.
68. J.A. Dean, *Lange's Handbook of Chemistry*. 15th ed 1999, New York, McGraw-Hill, Inc.
69. N.H. Williams, J.K. Yandell, *Australian Journal of Chemistry*, **35** (1982) 1133-1144.
70. N. Cioffi, I. Losito, R. Terzano, C.G. Zambonin, *Analyst*, **125** (2000) 2244-2248.
71. O. Wahlberg, *Acta Chemica Scandinavica*, **25** (1971) 1064-1078.
72. E.G. Ball, *Journal of Biological Chemistry*, **118** (1937) 219-239.
73. R.G. Bates, u: I.M. Kolthoff i P.J. Elving (ur.) *Treatise on Analytical Chemistry, Part I*, Wiley, New York, 1978, 793.
74. D.H. Evans, K.M. O'Connell, R.A. Petersen, M.J. Kelly, *Journal of Chemical Education*, **60** (1983) 290-293.
75. Z. Fang, H. Zhang, P. Zhang, S. Huang, L. Guo, G. Hu, *Acta Metallurgica Sinica*, **9** (1996) 189-192.
76. E. Laviron, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **146** (1983) 1-13.
77. E. Laviron, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **146** (1983) 15-36.
78. E. Laviron, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **130** (1981) 23-29.
79. E. Laviron, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **124** (1981) 1-7.
80. E. Laviron, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **124** (1981) 9-17.
81. J. Lee, J.A. Hunt, J.T. Groves, *Journal of the American Chemical Society*, **120** (1998) 6053-6061.
82. A. Bettelheim, D. Ozer, D. Weinraub, *Dalton Transactions* (1986) 2297-2301.
83. J.T. Groves, J. Lee, S.S. Marla, *Journal of the American Chemical Society*, **119** (1997) 6269-6273.
84. L.J. Boucher, *Coordination Chemistry Reviews*, **7** (1972) 289-329.
85. R. Schmid, A.M. Miah, V.N. Sapunov, *Physical Chemistry Chemical Physics*, **2** (2000) 97-102.
86. G. Ferrer-Sueta, I. Batinić-Haberle, I. Spasojević, I. Fridovich, R. Radi, *Chemical Research in Toxicology*, **12** (1999) 442-449.
87. A.A. Rashin, B. Honig, *Journal of Physical Chemistry*, **89** (1985) 5588-5593.
88. A.A. Rashin, B. Honig, *Annals of the New York Academy of Sciences*, **482** (1986) 143-144.

89. J.E. Huheey, E.A. Keiter, R.L. Keiter, *Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity* 1993, New York, HarperCollins, Inc.
90. A.M. James, M.P. Lord, *Macmillan's Chemical and Physical Data* 1992, London, Macmillan.
91. D.R. Lide, Ed. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. 86th ed. 2005, CRC Press.
92. P. Muller, *Pure and Applied Chemistry*, **66** (1994) 1077-1184.

8. Sažetak

Istraživanje oksidativnog stresa stanica i molekula koje mogu umanjiti ili ukloniti oštećenja stanica uzrokovana njime predmetom je velikog interesa suvremenih istraživanja. Molekulne vrste koje uzrokuju oksidativni stres su reaktivne vrste kisika (ROS) i dušika (RNS), poput superoksidnog aniona ($O_2^{\bullet-}$), peroksinitrita ($ONOO^-$) ili hidroksilnog radikala (OH^\bullet). Djelotvornu obranu stanice od $O_2^{\bullet-}$ čine enzimi iz klase superoksid-dismutaza (SOD) koji kataliziraju reakciju $2O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$. Potraga za terapijskim sredstvima koja bi mogla neutralizirati $O_2^{\bullet-}$ dovela je do razvoja makrocikličkih kompleksa prijelaznih kovina kao potencijalnih redoks-aktivnih terapeutika. Zahvaljujući iznimnim elektronskim svojstvima, osobito djelotvornima pokazali su se spojevi iz klase manganoporfirina (MnP) koji mogu stvarati redoks cikluse sa staničnim reducensima poput glutationa, tetrahidrobiopterina ili askorbinske kiseline.

Pojačana djelotvornost manganoporfirinskih mimetika SOD postignuta je supstitucijom porfirinskog prstena, čime dolazi do promjene redukcijskog potencijala kovinskog iona. Alkilacijom piridilskih prstena *meso(orto-tetrapiridil)* manganoporfirina postignut je redukcijski potencijal vrlo blizak optimalnom, pri čemu se svojom aktivnošću ističe *meso(orto-tetraetilpiridil)* manganoporfirin, MnTE-2-PyP. Pored prikladnog formalnog redukcijskog potencijala, za uspješnost djelovanja manganoporfirina *in vivo* ključna je njihova lipofilnost. Povećanje lipofilnosti može se postići pomicanjem alkilnih supstituenata iz *orto-* u *meta* položaje, te su nedavno sintetizirani *meso(meta-tetraalkilpiridil)* manganoporfirini, uključujući *meso(meta-tetraetilpiridil)* manganoporfirin, MnTE-3-PyP.

U prvom dijelu ovog rada istražena su kiselo-bazna svojstva *meso(orto-* i *meta-tetraetilpiridil)* manganoporfirina. U vodenim otopinama manganoporfirini koordiniraju do dvije aksijalno smještene molekule vode čija deprotonacija može imati velik utjecaj na redukcijski potencijal manganoporfirina i time na njihovu citoprotektivnu djelotvornost. U vodenim otopinama kompleksa MnP u rasponu vrijednosti pH 2-13 potvrđeno je postojanje sljedećih specija: $(H_2O) Mn(II)TE-m-PyP^{4+}$, $(HO) Mn(II)TE-m-PyP^{3+}$, $(H_2O)_2Mn(III)TE-m-PyP^{5+}$, $(H_2O)(HO)Mn(III)TE-m-PyP^{4+}$, $(O)(H_2O)Mn(III)TE-m-PyP^{3+}$, $(O)(H_2O)Mn(IV)TE-m-PyP^{4+}$ i $(O)(HO)Mn(IV)TE-m-PyP^{3+}$ ($m = 2, 3$). Spektrofotometrijskim titracijama određene su sve

konstante disocijacije koje povezuju navedene specije u navedenom rasponu vrijednosti pH, kao i termodinamički parametri navedenih konstanta disocijacije.

S obzirom da je vrijednost redukcijskog potencijala ključna za njihovo biološko djelovanje, u drugom dijelu ovog rada istražena su elektrokemijska svojstva *meso*(orto- i *meta*-tetraetilpiridil) manganoporfirina. Cikličkom voltametrijom određeni su apsolutni formalni redukcijski potencijali i formalni redukcijski potencijali prema standardnoj vodikovoj elektrodi koji povezuju navedene specije u rasponu vrijednosti pH 2-13, kao i termodinamički parametri navedenih formalnih redukcijskih potencijala. Također su određeni elektrokemijski parametri elektronskih prijelaza navedenih specija i potvrđeni računalnim simulacijama mjerenja. Kronokulometrijskim mjerenjima određeni su difuzijski koeficijenti specija MnP i procijenjene veličine njihovih vodenih šupljina.

Naposljetku, predložena je potpuna shema ponašanja kompleksa MnP u vodenim otopinama navedenom rasponu vrijednosti pH, s obzirom na navedene disocijacijske i redoks ravnoteže.

9. Summary

There has been a great deal of interest in the research of cellular oxidative stress and particularly the molecules which could alleviate the damage it can cause. Molecular species causing oxidative stress are the reactive oxygen (ROS) and nitrogen species (RNS), such as superoxide anion ($O_2^{\bullet-}$), peroxynitrite ($ONOO^-$) or hydroxyl radical (OH^\bullet). A class of enzymes called the superoxide dismutases (SOD), catalyzing the reaction $2O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$, constitutes an effective cellular protection from oxidative damage. Macrocyclic complexes of transition metals have been developed as potential redox-active therapeutics able to neutralize $O_2^{\bullet-}$. The compounds from the class of manganese porphyrins (MnPs) have been shown to be particularly effective, due to their unique electronic properties enabling them to construct redox cycles that involve the consumption of superoxide and NO-derived oxidants at the expense of readily available biochemical reductants like glutathione, tetrahydrobiopterine or ascorbic acid.

The increased activity of MnPs has been achieved by attenuating the metal-centered redox potential using various substituents to the porphyrin ring. The alkylation of the *meso*(*ortho*-tetrapyrityl) MnP yielded the redox potential close to optimal and one of the most active compounds was found to be the *meso*(*ortho*-tetraethylpyridyl) derivative, MnTE-2-PyP. Besides the appropriate redox potential, the efficiency of MnPs as scavengers of reactive species is influenced by their lipophilicity. Changing the position of alkyl substituents from *ortho*- to *meta*- positions on the porphyrin ring increases lipophilicity and new *meso*(*meta*-tetraalkylpyridyl) derivatives have been synthesized recently, including *meso*(*meta*-tetraethylpyridyl) derivative, MnTE-3-PyP.

In the first part of this work, acid-base properties of *meso*(*ortho*- i *meta*-tetraethylpyridyl) MnPs have been investigated. In aqueous solutions MnP complexes can coordinate two axial water molecules which can deprotonate and have a significant influence on the redox potential of MnPs and therein their citoprotective activity. The following species have been confirmed to exist in aqueous solutions in the pH range 2-13: $(H_2O) Mn(II)TE-m-PyP^{4+}$, $(HO)Mn(II)TE-m-PyP^{3+}$, $(H_2O)_2Mn(III)TE-m-PyP^{5+}$, $(H_2O)(HO)Mn(III)TE-m-PyP^{4+}$, $(O)(H_2O)Mn(III)TE-m-PyP^{3+}$, $(O)(H_2O)Mn(IV)TE-m-PyP^{4+}$ and $(O)(HO)Mn(IV)TE-m-PyP^{3+}$ ($m = 2, 3$).. Using the

combined potentiometric and spectrophotometric measurements all dissociation constants connecting these species have been determined, as well as the thermodynamic parameters of dissociation reactions.

Considering that the redox potential of MnPs is crucial for their biological activity, in the second part of this work the electrochemical properties of *meso*(*ortho*- and *meta*-tetraethylpyridyl) MnPs have been investigated. The absolute formal potentials and the formal potentials *vs.* standard hydrogen electrode have been determined by cyclic voltammetry in the pH range 2-13 and the thermodynamic parameters of these formal potentials have been determined as well. Additionally, the electrochemical parameters of these electron transitions have been determined and confirmed by computer simulations. Chronocoulometric measurements enabled the determination of the diffusion coefficients of the MnP species and the sizes of their water cavities have been estimated.

Finally, a complete scheme describing the behaviour of MnP complexes in aqueous solutions in the pH range 2-13 has been constructed, taking into account the dissociation and redox equilibria.

10. Životopis

Tin Weitner, mr. pharm. rođen je 1978. godine u Zagrebu, gdje je završio VII. gimnaziju 1996. godine. Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, smjer farmacija, upisao je 1996. godine, a diplomirao 2001. godine obranivši diplomski rad pod naslovom „Spektrofotometrijsko istraživanje kompleksiranja Be(II) s hidroksamskim kiselinama u vodenom mediju“. 2002. godine zapošljava se na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu gdje aktivno sudjeluje u znanstveno-istraživačkom radu u okviru projekata MZOŠ-a *Kinetika i mehanizam katalitičkog antioksidacijskog djelovanja Mn-porfirina* (006-0061247-0009) i *Gastrin as a Cofactor of Dietary Iron Uptake* (006-0061247-0978).

Popis radova

Izvorni znanstveni radovi u CC časopisima

1. Weitner, Tin; Budimir, Ana; Kos, Ivan; Batinić-Haberle, Ines; Biruš, Mladen.

Acid-base and Electrochemical Properties of Manganese meso(ortho- and meta-N-ethylpyridyl)porphyrins: Potentiometric, Spectrophotometric and Spectroelectrochemical Study of Protolytic and Redox Equilibria. // Dalton Transactions. (2010), prihvaćen rad.

2. Budimir, Ana; Šmuc, Tomislav; Weitner, Tin; Batinić-Haberle, Ines; Biruš, Mladen.

Thermodynamics and electrochemistry of manganese ortho-tetrakis(N-n-butylpyridinium-2-yl)porphyrin in aqueous solutions. // Journal of Coordination Chemistry. 63 (2010); 2750-2765.

3. Vinković Vrček, Ivana; Kos, Ivan; Weitner, Tin; Biruš, Mladen.

Acido-Base Behavior of Hydroxamic Acids: Experimental and Ab Initio Studies on Hydroxyureas. // Journal of Physical Chemistry A. 112 (2009), 46; 11756-11768.

4. Weitner, Tin; Bešić, Erim; Kos, Ivan; Gabričević, Mario; Biruš, Mladen.

Formation of free radicals during the oxidation of N-methylhydroxyurea with dioxovanadium(V) ions. // Tetrahedron Letters. 48 (2007), 51; 9021-9024.

Znanstveni radovi u drugim časopisima

1. Weitner, Tin; Bečirević, Mira; Biruš, Mladen; Božikov, Velimir; Romić, Željko; Bačić Vrca, Vesna.

Kinolonski antimikrobni lijekovi. // Farmaceutski glasnik : glasilo Hrvatskog farmaceutskog društva. 60 (2004), 12; 603-625.

Drugi radovi u zbornicima skupova s recenzijom

1. Weitner, Tin; Biruš, Mladen; Batinić-Haberle, Ines.

Spectrophotometric determination of redox potentials of Manganese meso (ortho- and meta-ethylpyridyl) porphyrins. // EUCMOS 2010 30th European Congress on Molecular Spectroscopy / Becucci, Maurizio; Gellini, Cristina; Schettino, Vincenzo (ur.)

Firenca: Biomedical and Technological Pole of the University of Florence, 2010. PS2-134.

2. Weitner, Tin; Biruš, Mladen; Mandić, Zoran.

Electrochemical properties of manganese porphyrin (MnTE-2-PyP5+) in aqueous media // Book of Abstracts of the 1st Regional symposium on electrochemistry of south-east Europe / Horvat-Radošević, Višnja ; Mandić, Zoran ; Gojo, Miroslav (ur.).

Zagreb : Croatian Society of Chemical Engineers, 2008. 47-48.

Sažeci u zbornicima skupova

1. Weitner, Tin; Budimir, Ana; Biruš, Mladen.

Acid-base properties of manganese tetra(ethylpyridyl)porphyrins // XXI. Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera / Pičuljan, Katarina; Smolec, Sonja (ur.).

Zagreb: Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehnologa, 2009. 192.

2. Weitner, Tin; Biruš, Mladen.

Mikrospecijacija ciprofloksacina u vodenom mediju // Treći hrvatski kongres farmacije s međunarodnim sudjelovanjem / Zorc, Branka (ur.).

Zagreb: Farmaceutsko-biokemijski fakultet, 2005. 112.

3. Kos, Ivan; Weitner, Tin; Biruš, Mladen.

Impurity control by NMR spectroscopy in betainhydroxamic acid chloride synthesis // DU NMR 2003 Program and Book of Abstract / Vikić-Topić, Dražen (ur.).

Zagreb: Ruđer Bošković Institute, 2003. 25-26.

11. Prilozi

1. Znanstveni rad: Budimir, Ana; Šmuc, Tomislav; Weitner, Tin; Batinić-Haberle, Ines; Biruš, Mladen. Thermodynamics and electrochemistry of manganese ortho-tetrakis(N-n-butylpyridinium-2-yl)porphyrin in aqueous solutions. // Journal of Coordination Chemistry. 63 (2010); 2750-2765.
2. Znanstveni rad: Weitner, Tin; Budimir, Ana; Kos, Ivan; Batinić-Haberle, Ines; Biruš, Mladen. Acid-base and Electrochemical Properties of Manganese meso(ortho- and meta-N-ethylpyridyl)porphyrins: Potentiometric, Spectrophotometric and Spectroelectrochemical Study of Protolytic and Redox Equilibria. // Dalton Transactions. (2010), prihvaćen rad.
3. Temeljna dokumentacijska kartica na hrvatskom jeziku.
4. Temeljna dokumentacijska kartica na engleskom jeziku.

Thermodynamics and electrochemistry of manganese *ortho*-tetrakis(*N*-*n*-butylpyridinium-2-yl)porphyrin in aqueous solutions

ANA BUDIMIR†, TOMISLAV ŠMUC†, TIN WEITNER†,
INES BATINIĆ-HABERLE‡ and MLADEN BIRUŠ*†

†Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, A. Kovačića 1,
Zagreb 10000, Croatia

‡Department of Radiation Oncology, Duke University Medical School, Durham,
NC 27710, USA

(Received 2 February 2010; in final form 1 April 2010)

Spectrophotometric pH-titrations ($1 < \text{pH} < 12$) of manganese *ortho*-tetrakis(*N*-*n*-butylpyridinium-2-yl)porphyrin (MnTnBu-2-PyP) have been performed in aqueous solution at various temperatures and ionic strengths, studying complexes of various manganese oxidation states (Mn(II)–(IV)). The observed results indicate three absorbing species of Mn^{III}TnBu-2-PyP, but only two absorbing species of Mn^{II}TnBu-2-PyP and Mn^{IV}TnBu-2-PyP within the studied acidity range. The first and second deprotonation constants are related to fully protonated and monodeprotonated species, i.e., the aqua and hydroxo complexes, respectively. The same complexes have been studied by cyclic-voltammetry and the results can be summarized as follows: $E^0(\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})_5^{5+}/\text{Mn}^{\text{II}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})^{4+}) + 0.203 \text{ V}$, $E^0(\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})^{4+}/\text{Mn}^{\text{II}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{OH})^{3+}) + 0.191 \text{ V}$, and $E^0(\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})^{5+}/\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})_2^{5+}) + 0.62 \text{ V}$, all *versus* NHE. In neutral and acidic media the oxidation of the aqua Mn(III) complex may also occur as a one-electron two-proton process yielding the oxoaqua Mn(IV) complex.

Keywords: Manganese tetra(*ortho*-*n*-butylpyridyl)porphyrin; Thermodynamics; Electrochemistry; Ionic strength; Proton dissociation

1. Introduction

Metalloporphyrins have been utilized as important electron carriers in a variety of biological and chemical redox systems, as their electron-transfer reactions can be finely tuned by the metal, the porphyrin macrocycle, and the electronic properties of the axial ligands. Over the last decade, there has been a great deal of interest in manganese porphyrins (MnP) because of their high reactivity and the accessibility of several

*Corresponding author. Email: birus@pharma.hr

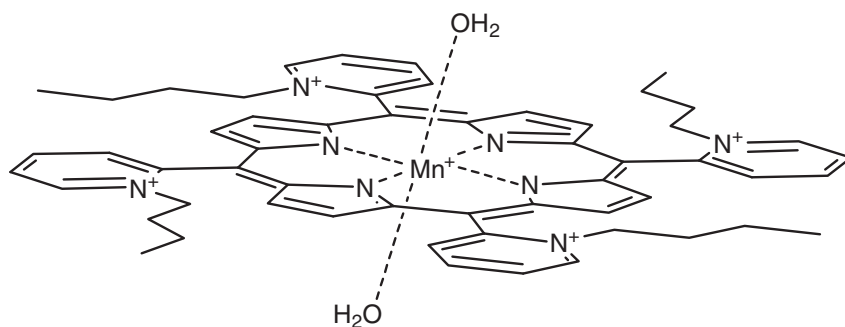


Figure 1. Manganese *ortho*-tetrakis(*N*-*n*-butylpyridinium-2-yl)porphyrin ($\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}$).

oxidation states that enables the construction of redox cycles involving the consumption of superoxide and NO-derived oxidants at the expense of readily available biochemical reductants. There is a growing interest in using MnPs as therapeutics for oxidative stress-related diseases, as the removal of reactive oxygen and nitrogen species is redox-based [1–3]. A structure activity relationship found for the manganese-centered reduction potential and the Mn-porphyrins catalytic rate constant of $\text{O}_2^{\cdot -}$ dismutation, guided the synthesis of the most potent functional superoxide dismutase (SOD)-mimics [4–8]. Modulation of SOD activity has been achieved by tuning the metal-centered reduction potential of metalloporphyrins *via* alkylation of the tetrapyridylporphyrin ring. Manganese *ortho*-tetrakis(*N*-ethylpyridinium-2-yl)porphyrin was found to have an excellent *in vitro* and *in vivo* SOD-like activity [7–9] and to exert an exceptional efficacy in ameliorating neurological disorders, injuries of central nervous system (stroke and spinal cord), radiation injury, cancer, diabetes, sickle cell disease, renal and cardiac ischemia reperfusion, and pain. In addition to the intrinsic antioxidant capacity of manganese porphyrins, bioavailability plays a major role in their *in vivo* efficacy [10]. For instance, the hexyl-MnP analogue (MnTnHex-2-PyP) exhibits similar antioxidant capacity as the ethyl-analogue (MnTE-2-PyP), but because of its higher lipophilicity the former is up to 120-fold more efficient in reducing oxidative stress injuries [11].

Among the manganese porphyrins where lipophilicity and the catalytic rate constant for $\text{O}_2^{\cdot -}$ dismutation were determined, *ortho*-tetrakis(*N*-*n*-butylpyridinium-2-yl)porphyrin (MnTnBu-2-PyP , figure 1) exhibits the antioxidant efficiency comparable to the most efficient methyl- and ethyl-analogues, while its partition between *n*-octanol and water ($\log P_{\text{OW}}$) is *ca* 2 and 3 units more positive than the partition of other two analogues. Its lipophilicity that results in a high intracellular accumulation, along with its antioxidant potency, makes it prospective drug for treating diseases that have oxidative stress in common. The still relatively high hydrophilicity is expected to prevent its precipitation in strongly alkaline water solution, where the charge of the aqua complex reduces by two units due to the deprotonation of coordinated water. The latter property should allow a detailed study of both the proton-dependent speciation and the formal reduction potentials within a wide range of acidity, which should improve our understanding of *in vitro* and possibly *in vivo* catalytic effectiveness of manganese porphyrins.

In this work we present the results of spectrophotometric and voltammetric investigations of the deprotonation of MnTnBu-2-PyP at various temperatures and

ionic strengths of aqueous solutions for the Mn(II), Mn(III), and Mn(IV) porphyrin complexes.

2. Experimental

Throughout the experiments, water was doubly distilled in an all-glass apparatus and the highest purity chemicals were used. The water was further boiled for 1 h and cooled under nitrogen (purified by a Sigma Oxiclear cartridge) in order to exclude CO₂ and O₂. The ionic strength was maintained constant with sodium perchlorate (Sigma). Perchloric acid (70%, Fluka) and sodium hydroxide (p.a., Merck) concentrations were determined, respectively, by the titration of sodium tetraborate solution (puriss. p.a., Fluka) in the presence of methyl red as indicator and potassium hydrogenphthalate (99.99%, Acros Organics) with phenolphthalein as indicator.

Investigated metalloporphyrin, MnTnBu-2-PyPCL₅ was synthesized according to published procedures [12]. Manganese(II) porphyrin was prepared by the reduction of manganese(III) porphyrin with ascorbic acid (Fluka), whereas the oxidation of manganese(III) porphyrin was performed by K₃[Mo(CN)₈] that was prepared according to the published procedure [13, 14] immediately before the experiment. Concentration of K₃[Mo(CN)₈] was determined spectrophotometrically ($\epsilon_{388} = 1360 (\text{mol L}^{-1})^{-1} \text{cm}^{-1}$) [15]. Both reduction and oxidation reactions were completely reversible, and the original manganese(III) porphyrin could be fully recovered by changing the ratio of reductant and oxidant or by changing the pH (*vide infra*).

A solution of Mn^{III}TnBu-2-PyPCL₅ ($\approx 4.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) was prepared by the dilution of a stock solution in water. The ionic strength was adjusted with sodium perchlorate. Aliquots of 20 mL of this solution were introduced into a jacketed cell, maintained at $(25.0 \pm 0.2)^\circ\text{C}$. The free hydrogen ion concentration was measured with a combined glass electrode Mettler DG111-SC and Mettler T70 titrator. The Ag/AgCl reference electrode was filled with $3 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$. The combined glass electrode was calibrated as a hydrogen concentration probe by titrating standard solution of HClO₄ with standard CO₂-free NaOH solution [16, 17].

The spectrophotometric titrations were carried out by the addition of aliquots of standardized NaOH solution with a piston microburet (Eppendorf). Special care was taken to ensure that complete equilibration was attained. Simultaneous p[H⁺] and UV-Vis absorption spectra (350–600 nm) were recorded. Absorption spectra were recorded using a Varian CARY 50 UV-Vis spectrophotometer fitted with Cary 50 Fibre Optic Dip Probe Coupler.

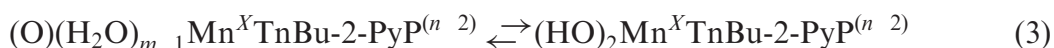
Cyclic-voltammetry (CV) measurements were performed using a three-electrode potentiostat CH Instruments 600D, on-line connected to a PC. The data were treated by CHI software v9.23. The working, reference, and auxiliary electrodes were a glassy carbon (GC) electrode, the Ag/AgCl standard electrode ($3 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$), and a platinum wire, respectively. GC electrode was polished with an aqueous alumina slurry with particles $0.05 \mu\text{m}$ in diameter before every experiment and the electrode surface was determined to be 0.08 cm^2 by chronocoulometry of 2 mM solution of K₃[Fe(CN)₆] in 1 mol L^{-1} aqueous KCl. The pH of aqueous solutions was determined on a Mettler Toledo T70 titrator with Mettler DG-111-SC glass electrode calibrated

with standard pH 4.00, 7.00, and 10.00 buffers. The supporting electrolyte in CV measurements of manganese porphyrin was $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$.

3. Results

3.1. Spectrophotometric pH titration of MnTnBu-2-PyP complexes

In aqueous solution, manganese porphyrins coordinate one or two axial waters, which depending on the pH could deprotonate according to reaction patterns (1)–(3).



In these equations X and n stand for oxidation numbers of manganese and the formal charges of the (di)aqua complexes, and m is 1 or 2 depending on the oxidation state of manganese and/or degree of deprotonation, respectively.

3.2. Deprotonation of $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}$

As a representative example, the observed visible spectral change of the $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}$ in aqueous solution as a function of $\text{p}[\text{H}^+]$ at $I = 2 \text{ mol L}^{-1}$ is shown in figure 2.

Up to $\text{p}[\text{H}^+] = 9$, the absorption spectrum of $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}$ is characterized by an intense and sharp absorption centered at $\sim 454 \text{ nm}$ together with two weaker and broader absorption bands lying at 366 and 568 nm. The increase of $\text{p}[\text{H}^+]$ induces a clear hypsochromic shift of the intense absorption band from 454 to 444 nm and the loss of the band at 366 nm. Absence of isosbestic points during the titration clearly indicates an involved equilibrium that includes several absorbing species. Spectral analysis using the SPECFIT program revealed three relevant absorbing species related by two mono-deprotonation processes. Fitting such a model to the experimental data at different ionic strengths resulted in the values of deprotonation constants given in table S1. Theoretical electronic spectra of different $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}$ species predicted from the fit are presented in the inset on figure 2.

Variations of the observed ionization constants of $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}$ with ionic strength and temperature are presented in figures 3 and 4, respectively.

Linear fit to the data shown in figure 3 resulted in the following parameters: (i) the first ionization constants; slope = 1.0 ± 0.1 , intercept = 10.33 ± 0.07 ; (ii) the second ionization constants; slope = 1.1 ± 0.3 , intercept = 11.2 ± 0.2 . The obtained values of intercepts correspond to the first and second thermodynamic acidity constants of $(\text{H}_2\text{O})_2 \text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}^{5+}$ calculated as 2.14×10^{10} and $1.58 \times 10^{11} \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$, respectively. From the intercepts and slopes of van't Hoff plots shown in figure 4, the reaction enthalpies and entropies were calculated as

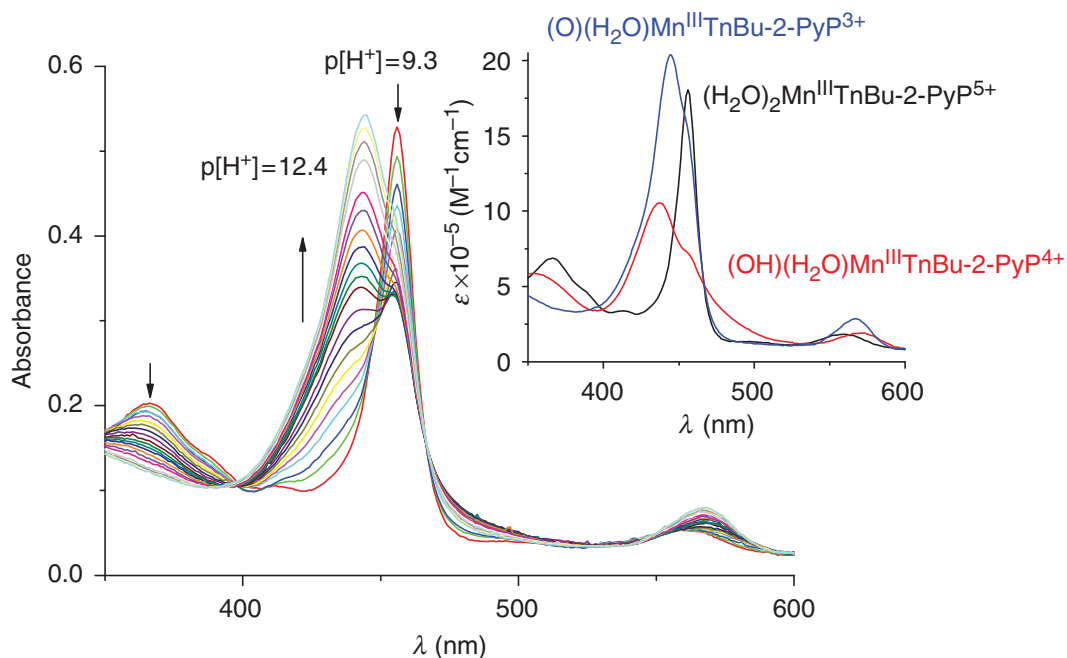


Figure 2. Spectrophotometric titration of $4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}$ with NaOH , $I = 2 \text{ mol L}^{-1}$ (NaClO_4), $\theta = 25^\circ\text{C}$, $l = 1 \text{ cm}$. The $\text{p}[\text{H}^+]$ values of the solution were varied within the $\text{p}[\text{H}^+]$ -range 9.3–12.4 (for the sake of clarity not all the measured spectra are shown).

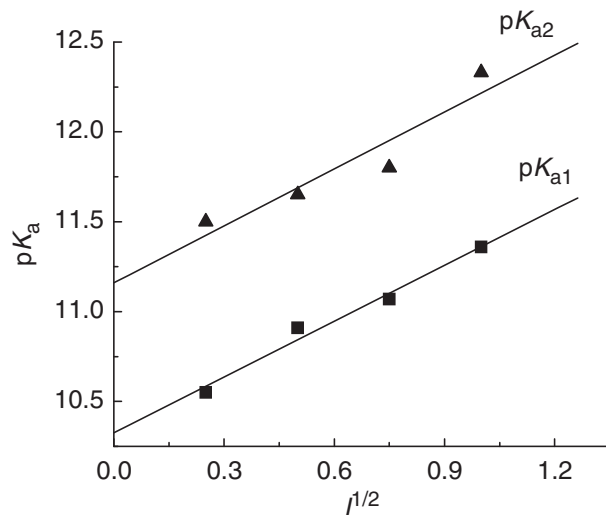


Figure 3. Dependence of $\text{p}K_{\text{a}}$ s of $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}$ on $I^{1/2}$ at 25°C .

follows: $\Delta_{\text{a1}}H = 60 \pm 2 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\Delta_{\text{a1}}S = -16 \pm 8 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$, $\Delta_{\text{a2}}H = 49 \pm 4 \text{ kJ mol}^{-1}$, and $\Delta_{\text{a2}}S = -67 \pm 8 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$.

3.3. Deprotonation of $\text{Mn}^{\text{II}}\text{TnBu-2-PyP}$

As a representative example, the observed visible spectral change of $\text{Mn}^{\text{II}}\text{TnBu-2-PyP}$ in aqueous solution as a function of $\text{p}[\text{H}^+]$ at $I = 2 \text{ mol L}^{-1}$ is shown in figure 5.

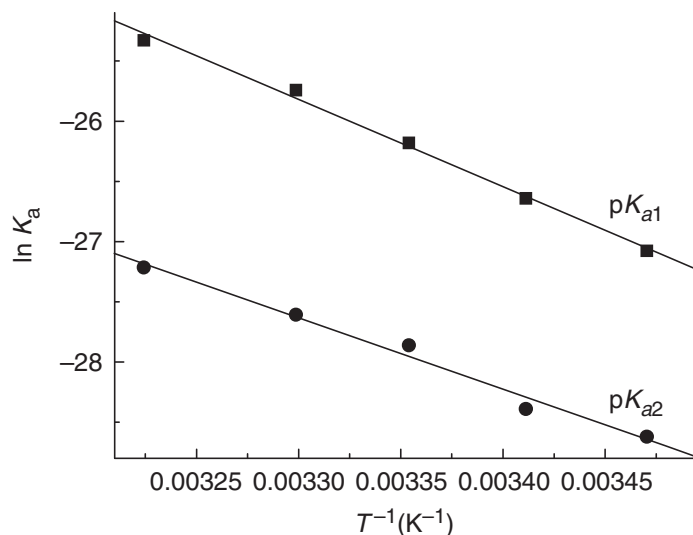


Figure 4. van't Hoff plots for the first and second ionization constants of $(H_2O)_2Mn^{III}TnBu-2-PyP^{5+}$ at $I = 2 \text{ mol L}^{-1}$ ($NaClO_4$).

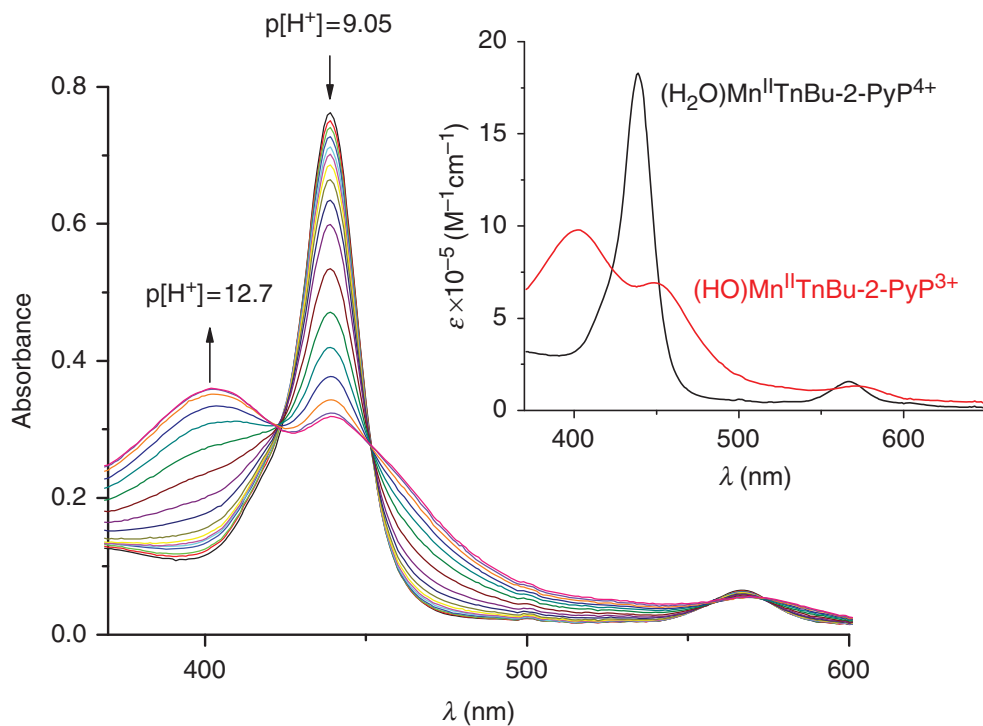


Figure 5. Spectrophotometric titration of $4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ $Mn^{II}TnBu-2-PyP$ with 0.2 mol L^{-1} $NaOH$, in 10 mM ascorbic acid, $I = 2 \text{ mol L}^{-1}$ ($NaClO_4$), $\theta = 25^\circ C$, $l = 1 \text{ cm}$. For the sake of clarity not all the measured spectra are shown.

The titration was carried out under purified nitrogen. Manganese ion in $MnTnBu-2-PyP$ was maintained in reduced form by the addition of ascorbic acid in a large molar excess.

A slight shift of the isosbestic points observed during the titration could be indicative of an involved equilibrium. The SPECFIT factor analysis reveals at least two relevant absorbing species existing in solution, but the third one could not be

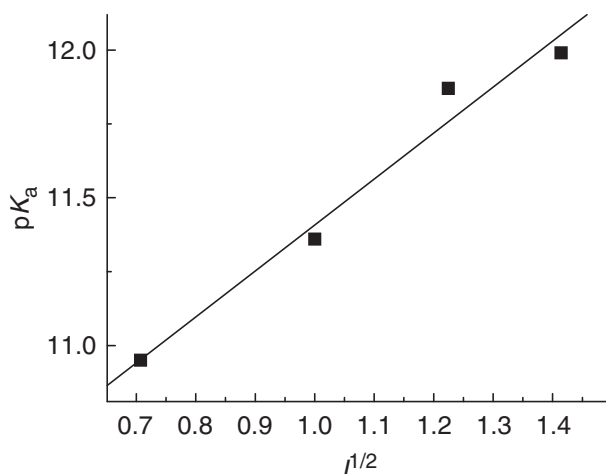


Figure 6. Dependence of pK_a of $Mn^{II}TnBu-2-PyP$ species on $I^{1/2}$ at 25°C.

definitively discarded. Therefore, the observed spectral data were fitted to two different models, one affording two spectral species and one pK_a value and another one affording three spectral species and two pK_a 's.

The three-species model for $Mn^{II}TE-2-PyP$ deprotonation produces a slightly better fit, which can be expected due to more degrees of freedom. Judging from the standard deviations, that model is only slightly better than the two-species model and the residuals of spectral data are similar for both models. According to the three-species model, the first deprotonation of $(H_2O)Mn^{II}TnBu-2-PyP^{4+}$ causes an almost negligible hypsochromic shift of the spectrum, with the practically identical spectral shapes of diprotonated and monoprotated species of $Mn^{II}TnBu-2-PyP$, differing only in their intensities. The calculated pK_{a1} value has a 10-fold larger standard deviation than pK_{a2} , and the pK_a value for the two-species model is remarkably similar to pK_{a2} obtained from the three-species model. Therefore, the existence of the third spectral species could be just an artifact related to experimental errors and we assume with certainty only one pK_a for acid base equilibrium of $Mn^{II}TnBu-2-PyP$, whereas the other pK_a cannot be confirmed with the current experimental data.

Accordingly, the two-species model was fitted to the observed spectral changes affording the calculation of the pK_a values (table S2), and the electronic spectra for the different $Mn^{II}TnBu-2-PyP$ species (inset of figure 5). The variations of the observed ionization constant of $Mn^{II}TnBu-2-PyP^{5+}$ with the ionic strength and temperature are presented in figures 6 and 7, respectively.

Linear fit to the data shown in figure 6 resulted in the following parameters: slope = 1.5 ± 0.2 , intercept = 10.6 ± 0.2 . The intercept corresponds to the thermodynamic acidity constant of $(H_2O)Mn^{II}TnBu-2-PyP^{4+}$ calculated as $3.98 \times 10^{10} \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$. From the intercept and slope of van't Hoff plot shown in figure 7, the reaction enthalpy and entropy were calculated as follows: $\Delta_{a1}H = 59 \pm 2 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\Delta_{a1}S = 32 \pm 7 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$.

3.4. Deprotonation of $Mn^{IV}TnBu-2-PyP$

In order to determine the deprotonation patterns of the manganese(IV) porphyrins, the spectrophotometric titrations had to be performed in the presence of an

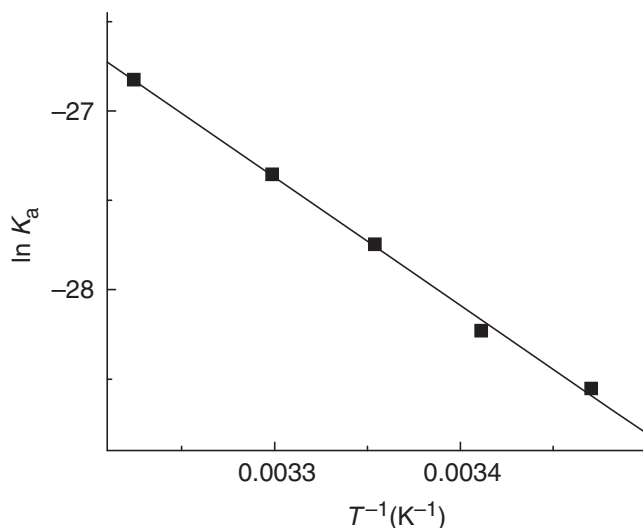


Figure 7. van't Hoff plot for acid dissociation of $\text{Mn}^{\text{II}}\text{TnBu-2-PyP}$ at $I = 2 \text{ mol L}^{-1}$ (NaClO_4).

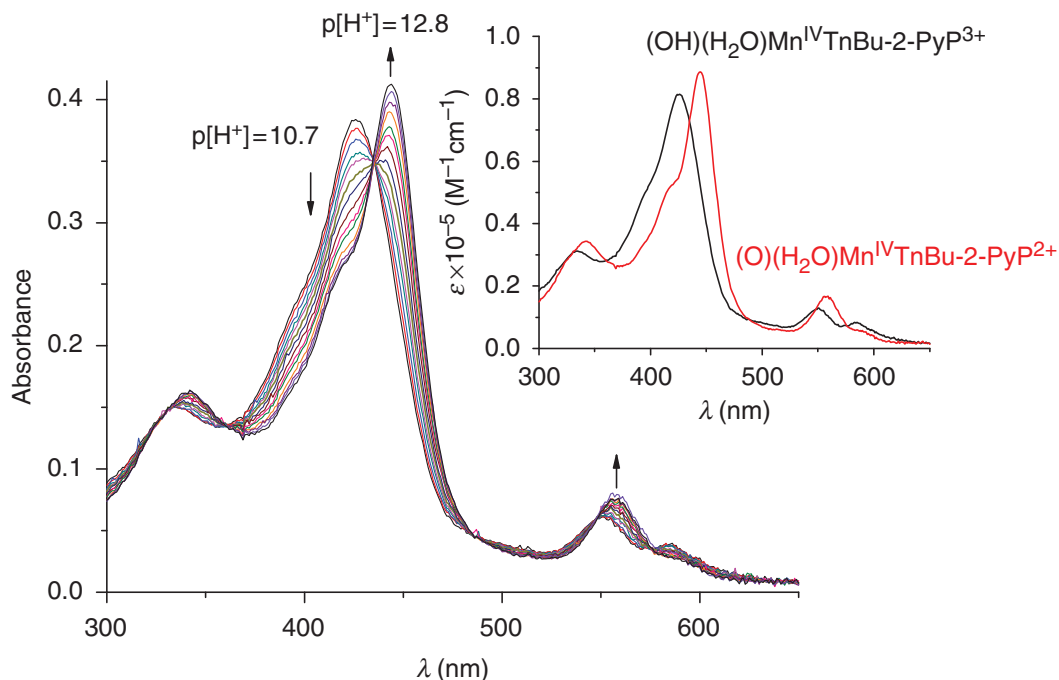


Figure 8. Spectrophotometric titration of $4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TnBu-2-PyP}$ with 0.2 mol L^{-1} NaOH , $I = 2 \text{ mol L}^{-1}$ (NaClO_4), $\theta = 25^\circ\text{C}$, $l = 1 \text{ cm}$. For the sake of clarity not all the measured spectra are shown.

efficient oxidant. Maintenance of MnTnBu-2-PyP in oxidized form was easily achieved by the addition of 0.1 mM $[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}$, and by carrying out the pH titration in aqueous solution under purified argon. Dependence of the observed visible spectrum of the $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TnBu-2-PyP}$ on pH in aqueous solution at 2 mol L^{-1} ionic strength is shown in figure 8 as a representative example.

The spectral analysis using the SPECFIT program revealed two relevant absorbing species related through a single-proton exchange. Fitting such a model to the experimental data at different ionic strength resulted in the values of deprotonation

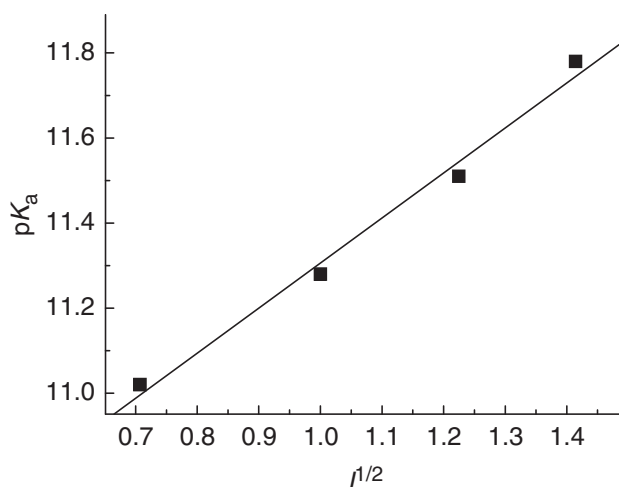


Figure 9. Dependence of pK_a of $(H_2O)(OH)Mn^{IV}TnBu-2-PyP^{5+}$ on $I^{1/2}$ at 25°C.

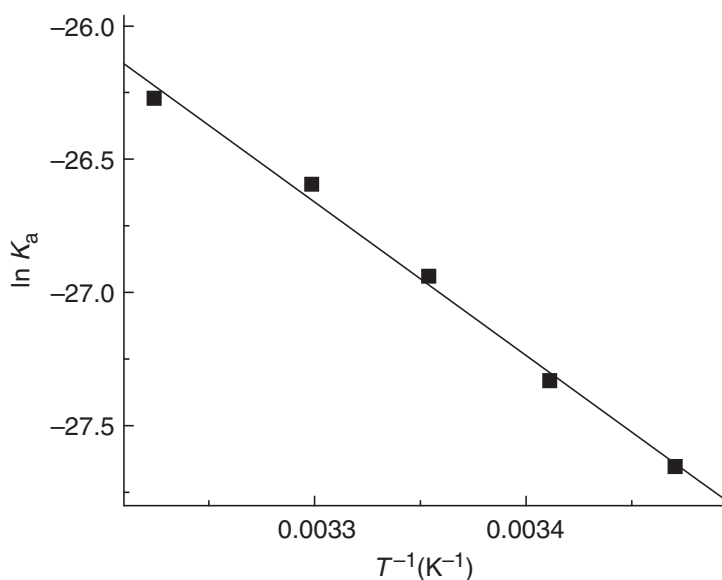


Figure 10. van't Hoff plot for $Mn^{IV}TnBu-2-PyP$ at $I = 2 \text{ mol L}^{-1}$ ($NaClO_4$).

constants given in table S3. The predicted theoretical spectral species are shown as inset in figure 8. Below pH 10 the $Mn(III)$ form of complex ($Mn^{III}TnBu-2-PyP$) was extremely stable, hence any deprotonation constant were inaccessible by the present type of experiments. The variations of the observed ionization constants of $Mn^{IV}TnBu-2-PyP^{5+}$ with the ionic strength and temperature are presented in figures 9 and 10, respectively.

Linear fit to the data shown in figure 9 resulted in the following parameters: slope = 1.06 ± 0.08 , intercept = 10.25 ± 0.09 . The latter corresponds to $1.78 \times 10^{10} \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$ for the thermodynamic acidity constant of $(H_2O)(OH)Mn^{IV}TnBu-2-PyP^{5+}$. From the intercept and slope of the van't Hoff plot shown in figure 10, the reaction enthalpy and entropy were calculated as follows: $\Delta_{a1}H = 48 \pm 2 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\Delta_{a1}S = -63 \pm 7 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$.

3.5. Cyclic voltammetry of MnTnBu-2-PyP

In acidic and mildly basic media only one pH-independent current peak pair has been observed and attributed to Mn(III)/Mn(II) electron transfer (figure 11). At pH values above 9, an additional current peak pair appeared at more positive potentials, becoming fully developed at pH=11, corresponding to the Mn(IV)/Mn(III) redox transition (figure 12). Cathodic (E_{pc}) and anodic (E_{pa}) peak separation for both redox processes increases with scan rate, ν , indicative of a quasi-reversible single-electron transfer. Both potentials shift toward more negative values with increase in pH of the solution. Dependence of peak current, i_p , versus $\nu^{1/2}$ for the reduction of $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}^{5+}$ (inset of figure 11), clearly demonstrates the transition from approximately reversible electron transfer at low values of ν to approximately irreversible electron transfer at high values of ν . Similarly, peak currents of the Mn(III)/Mn(II) electron-transfer process measured at pH=12 display even larger deviation from the reversible case, approximating to irreversible electron transfer at high values of ν (right-side inset of figure 12) [18].

Parameters of the recorded cyclic voltammograms were evaluated according to the previously published procedure [19, 20] and simulated using CHI software v9.23. A summary of the estimated electrochemical parameters for the Mn(III)/Mn(II) and Mn(IV)/Mn(III) redox couples is given in table 1. The data in table 1 are identical to the values of $E_{1/2}$ versus Ag/AgCl published previously [12], and the differences in potentials versus NHE are due to the differences in calibration. Yet, importantly, the

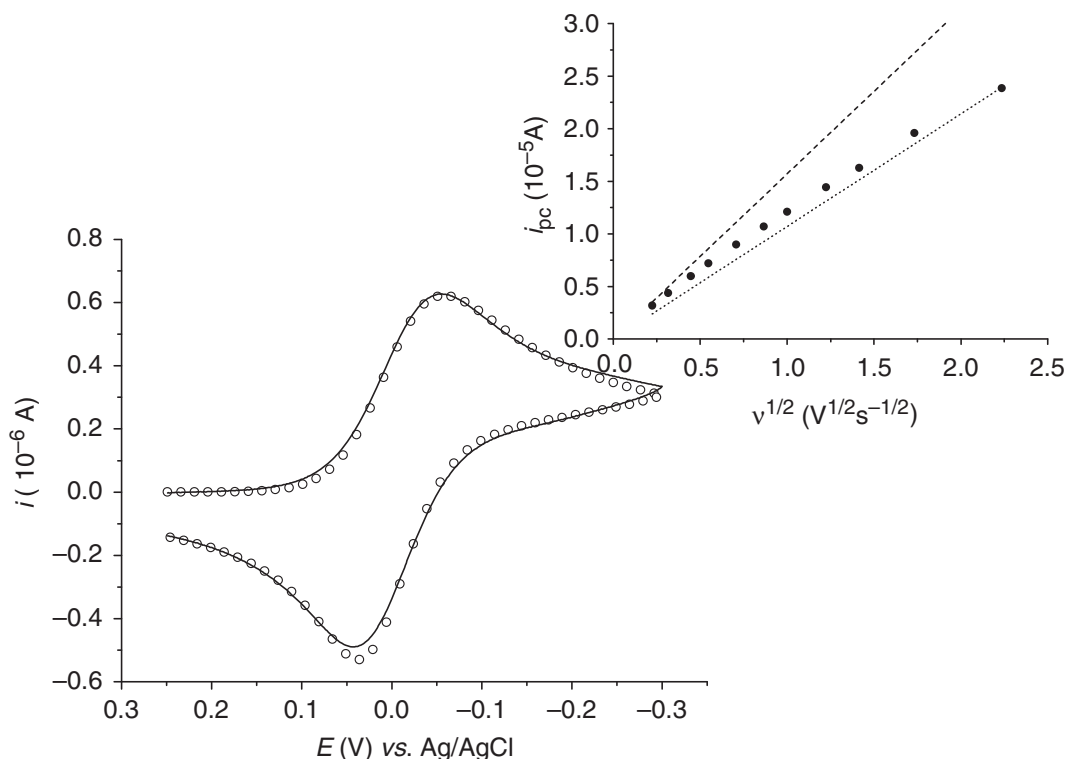
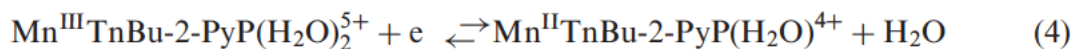


Figure 11. Cyclic voltammogram of $4.8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \text{ Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}^{5+}$, pH 7.6, $[\text{NaH}_2\text{PO}_4]$ 0.05 mol L^{-1} , $[\text{NaCl}]$ 0.1 mol L^{-1} , ν 0.2 V s^{-1} , θ 25°C , (-) measured values, (o) simulated values. **Inset:** Dependence of i_p on $\nu^{1/2}$, for the reduction of $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}^{4+}$, (--) Randles-Sevcik equation for reversible electron transfer, (···) equation for irreversible electron transfer ($\alpha = 0.3$), (●) measured values of i_{pc} .

differences in potentials among the members of Mn(III) *N*-alkylpyridylporphyrin series hold and thus all relationships that have been based on $E_{1/2}$ hold also. Diffusion coefficients were obtained by chronoamperometry in the same cell.

The obtained results indicate a single-electron redox transition for the Mn(III)/Mn(II) redox couple, as defined by equation (4):



The observed negative shift of the formal redox with increasing potential can be attributed to the above determined deprotonation equilibria of Mn(III) and Mn(II) species, in a way described by Laviron [21].

Deprotonation of these species also reduces the heterogeneous rate constant, probably caused by a decrease of the overall positive charge and formal reduction potential of the reacting species upon deprotonation. The value of cathodic electron-transfer coefficient $\alpha < 0.5$ is indicative of an asymmetric potential-energy function for the transition state, meaning that the structure of the activated complex of Mn(III)/Mn(II) redox couple has predominantly the structure of oxidized species. The literature data indicate that similar MnPs in the oxidized form, i.e., Mn(III), are six-coordinate

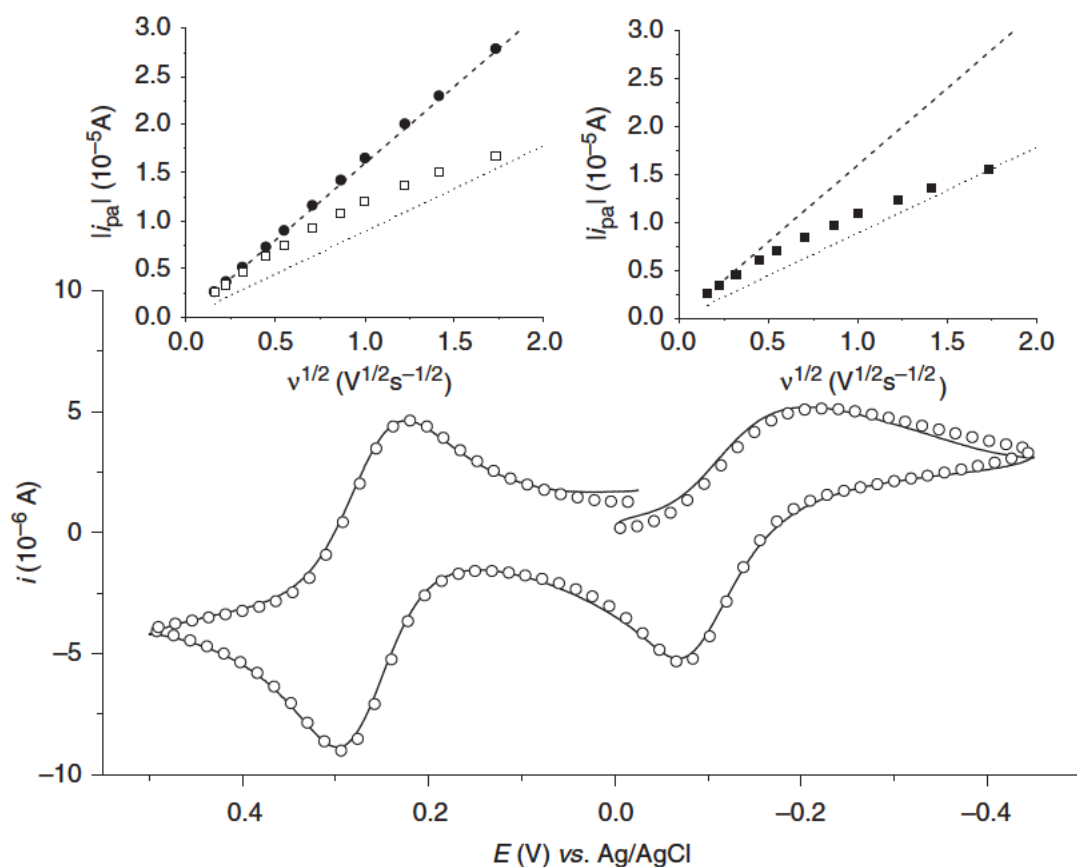


Figure 12. Cyclic voltammogram of $4.9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}^{5+}$, pH 12, $[\text{Na}_2\text{HPO}_4]$ 0.05 mol L^{-1} , $[\text{NaCl}]$ 0.1 mol L^{-1} , v 0.2 V s^{-1} , θ 25°C , (—) measured values, (o) simulated values. Left-side inset: Dependence of i_p on $v^{1/2}$, for the oxidation of $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}^{5+}$, (—) Randles-Sevcik equation for reversible electron transfer, (●) measured values of i_{pa} , (···) equation for irreversible electron transfer ($\alpha = 0.2$), (□) measured values of i_{pc} . Right-side inset: Dependence of i_p on $v^{1/2}$, for the oxidation of $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}^{4+}$, (—) Randles-Sevcik equation for reversible electron transfer, (···) equation for irreversible electron transfer ($\alpha = 0.2$), (■) measured values of i_{pa} .

with distorted octahedral geometry whereas in the reduced form, i.e., Mn(II), are five-coordinate with geometry near a tetragonal pyramid [22]. The asymmetry of the potential-energy function is further increased upon deprotonation of the involved species ($\alpha = 0.3$ at pH = 7.6 and $\alpha = 0.2$ at pH 12).

The oxidation of Mn(III) to Mn(IV) species is hindered in acidic media. The absence of electrochemical response of the Mn(III)/Mn(IV) redox pair in acidic media is most likely due to oxo-/aqua-equilibrium of Mn(IV):



Whereas, the electrochemical reaction is limited to the oxo-complex making it thermodynamically unfavorable in acidic media. As the pH of the medium increases, the rate of electron transfer increases, resulting in fully developed anodic and cathodic waves at sufficiently high pH. However, this electron-transfer process is also characterized by asymmetric potential-energy function for the transition state ($\alpha = 0.2$). This asymmetry is further demonstrated by the observed peak current for the oxidation of $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}^{5+}$ at pH = 12 matching the criteria of reversible electron transfer quite well, but this is not the case for the reduction of Mn(IV) species (left-side inset of figure 12).

4. Discussion

The equilibrium spectrophotometric measurements reveal that within the studied acidity range three forms of $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}$ and only two forms of $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TnBu-2-PyP}$ and $\text{Mn}^{\text{II}}\text{TnBu-2-PyP}$ could be identified in an aqueous solution with certainty. The assignments of these species to the deprotonation steps defined by equations (1) (3) could be based on the effect of the charge of the central metal ion on the polarization of the O–H bond of the coordinated water. The higher the positive charge localized on the manganese ion, the lower is the $\text{p}K_{\text{a}}$ of the corresponding complex. Accordingly, it seems possible that for $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TnBu-2-PyP}$, the species that is missing is the fully protonated one, which could eventually exist at a much lower pH. However, as clearly shown by CV measurements presented in figure 11, due to its high reduction potential this complex species cannot be observed and studied by conventional techniques. On the other hand, for the $\text{Mn}^{\text{II}}\text{TnBu-2-PyP}$ the inaccessible species under the studied experimental conditions is probably the fully deprotonated one whose $\text{p}K_{\text{a}}$ is perhaps shifted to a much higher value due to the decrease of positive charge on the central manganese ion. This hypothesis is confirmed by the thermodynamic data shown in table 2. Deprotonation of the Mn(II) porphyrin complex is characterized by 59 kJ mol^{-1} reaction enthalpy and $32 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ reaction entropy that closely resembles the values for the first deprotonation step of Mn(III) complex, whereas the deprotonation of the Mn(IV) porphyrin complex is characterized by 48 kJ mol^{-1} reaction enthalpy and $63 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ reaction entropy that closely resembles the values for the second deprotonation step of Mn(III) complex. Furthermore, according to such an assignment of the deprotonation steps, the obtained first ionization constant for Mn(II) complex ($\text{p}K_{\text{a}} = 10.6$) is slightly larger than for Mn(III) complex ($\text{p}K_{\text{a}} = 10.3$), reflecting the stronger polarization of the O–H bond of coordinated water in the latter complex due

Table 1. Estimated electrochemical parameters for the Mn(III)/Mn(II) and Mn(IV)/Mn(III) redox couples of MnTnBu-2-PyP complex.

Redox couple	pH 7.6	pH 12	
	Mn(III)/Mn(II)	Mn(III)/Mn(II)	Mn(IV)/Mn(III)
$E^{0'}$ (V) vs. NHE	0.203	0.113	0.471
α	0.3	0.2	0.2
k° (cm s ⁻¹)	0.004	0.0015	0.011
D_O (cm ² s ⁻¹)	2.8×10^{-6}	2.8×10^{-6}	3.7×10^{-6}
D_R (cm ² s ⁻¹)	2.6×10^{-6}	2.6×10^{-6}	2.8×10^{-6}

Conditions: [NaH₂PO₄] 0.05 mol L⁻¹ or [Na₂HPO₄] 0.05 mol L⁻¹, [NaCl] 0.1 mol L⁻¹, θ 25°C.

to its higher positive charge. In other words, Mn^{III}TnBu-2-PyP⁵⁺, with the manganese in the Mn(III) form, is more electron deficient and binds axial water more strongly than the electron-rich reduced Mn(II) site in Mn^{II}TnBu-2-PyP⁴⁺, making the water molecules in the former complex more acidic.

A decrease of *ca* 40 J K⁻¹ mol⁻¹ in reaction entropies from the first to the second deprotonation step is probably caused by the formation of oxo-manganese porphyrin complexes in the latter step, whose stronger hydration due to the increased dipole moments could decrease the reaction entropies. Such a hypothesis is also confirmed by CV measurements, namely, by the reduction of heterogeneous rate constant upon deprotonation of the Mn(III) species, from $k^\circ = 0.004$ cm s⁻¹ to $k^\circ = 0.0015$ cm s⁻¹ at pH 7.6 and 12 (table 1), respectively. The same situation is repeated in the second protonation step of the Mn(III) complex ($pK_a = 11.3$) compared to Mn(IV) complex ($pK_a = 10.3$), where a higher positive charge on manganese again causes a stronger polarization of O-H bond and in turn smaller pK_a of Mn(IV) complex.

Our values of deprotonation equilibrium constants obtained for Mn^{III}TnBu-2-PyP favorably compare to values reported for the methyl analogue of the studied metalloporphyrin [23], i.e., pK_{a1} (Mn^{III}TM-2-PyP) = 10.5, pK_{a2} (Mn^{III}TM-2-PyP) = 11.4, and pK_a (Mn^{IV}TM-2-PyP) = 10.5, additionally confirming the proposed assignment of deprotonation steps.

Substitution of butyl for methyl chains in the porphyrin ring does not change the acidity of coordinated water, although it was suggested that the core exposure in the *ortho*-manganese porphyrins is strongly affected by the length of the alkyl side chains [24]. A possible hindrance of coordinated water and a decrease in local dielectric constant caused by the alkyl chains, which may slow the rate of proton transfer between the axial ligand and the bulk water, must have a similar effect on both deprotonation and protonation rates of the complexes, causing no effect on the acid-base equilibria.

As shown in the distribution diagram (figure 13) of various species of MnTnBu-2-PyP calculated by use of the Hyss program [25], at pH 7.6 both Mn(II) and Mn(III) complexes are fully protonated, therefore the calculated formal reduction potential can be assigned to the couple Mn^{III}TnBu-2-PyP(H₂O)₂⁵⁺/Mn^{II}TnBu-2-PyP(H₂O)⁴⁺ ($E^{0'}(\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})_2^{5+}/\text{Mn}^{\text{II}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})^{4+}) = +0.203$ V vs. NHE).

From the determined values of deprotonation constants and the formal reduction potential for the aqua Mn(III)/Mn(II) porphyrin couple, the calculation of the formal potential for Mn^{III}TnBu-2-PyP(H₂O)(OH)⁴⁺/Mn^{II}TnBu-2-PyP(OH)³⁺ couple according to the Nernst equation yielded ($E^{0'}(\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})^{4+}/\text{Mn}^{\text{II}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{OH})^{3+}) = +0.191$ V vs. NHE). As expected, the calculated value

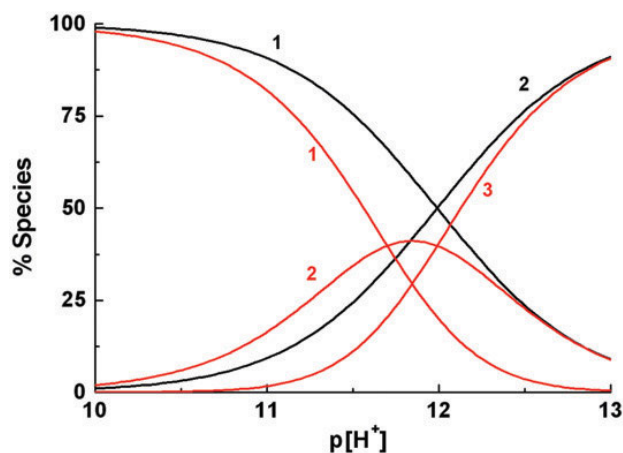


Figure 13. Distribution of MnTnBu-2-PyP species as function of pH at 25°C. Species: (1) $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})_2^{5+}$, (2) $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})^{4+}$, (3) $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})\text{O}^{3+}$; (1) $\text{Mn}^{\text{II}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})^{4+}$ and (2) $\text{Mn}^{\text{II}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{OH})^{3+}$.

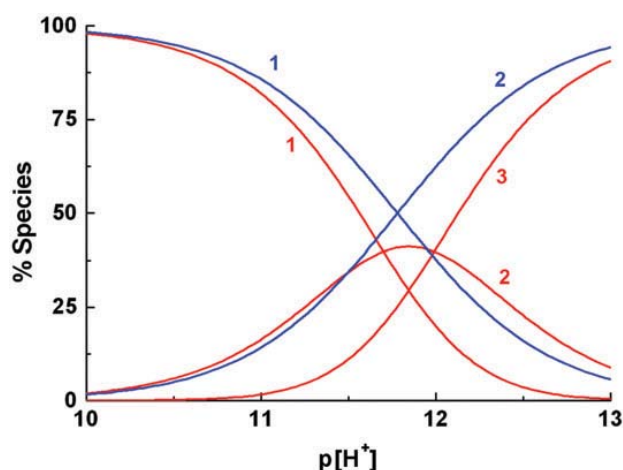


Figure 14. Distribution of MnTnBu-2-PyP species as function of pH at 25°C. Species: (1) $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})_2^{5+}$, (2) $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})^{4+}$, (3) $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})\text{O}^{3+}$; (1) $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})^{5+}$ and (2) $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TnBu-2-PyP}(\text{H}_2\text{O})\text{O}^{4+}$.

demonstrates that upon deprotonation of Mn(III) and Mn(II) aqua porphyrin complexes, the electron density on Mn(III) is slightly increased over Mn(II) central ion. As the presence of the oxo-complex was not confirmed for the Mn(II) complex, analogous comparison for this type of complex is impossible.

From figure 13 it is obvious that at pH 12, in both the oxidized and reduced form of the porphyrin complex, no complex species dominates in solution. Therefore, reduction potential in that solution was calculated using the appropriate form of Nernst equation. The estimated formal potential of 0.129 V *versus* NHE is in good agreement with the observed value at that pH listed in table 1, i.e., 0.113 V *versus* NHE indicating a reliability of the results obtained by two techniques used throughout this study.

A similar analysis can be performed for the reduction of Mn(IV)/Mn(III) studied complex. Figure 14 shows that at pH 10 two species dominate, the diaqua complex of Mn(III)-porphyrin complex and hydroxo complex of the Mn(IV) species. Therefore, the formal reduction potential, $E^0 = 0.62$ V *versus* NHE, obtained by CV measurements at

Table 2. Equilibrium parameters for the deprotonation of MnTnBu-2-PyP of various oxidation states of central metal ion.

Manganese oxidation state in MnTnBu-2-PyP	First deprotonation			Second deprotonation		
	pK_{a1}^a (25°C)	ΔH_a (kJ mol ⁻¹)	ΔS_a (J K ⁻¹ mol ⁻¹)	pK_{a2}^a (25°C)	ΔH_a (kJ mol ⁻¹)	ΔS_a (J K ⁻¹ mol ⁻¹)
Mn(II)	10.6 ± 0.2	59 ± 2	-32 ± 7			
Mn(III)	10.3 ± 0.1	60 ± 2	-16 ± 8	11.2 ± 0.2	49 ± 3	-67 ± 8
Mn(IV)				10.3 ± 0.1	48 ± 2	-63 ± 7

^aAt $I = 0$, obtained from the intercept of the “ pK_a vs. $I^{1/2}$ ” plots.

pH 10, mainly corresponds to the $Mn^{IV}TnBu-2-PyP(H_2O)(OH)^{5+}/Mn^{III}TnBu-2-PyP(H_2O)_2^{5+}$ couple, described by the half-reaction: $Mn^{IV}TnBu-2-PyP(H_2O)(OH)^{5+} + H^+ + e \rightarrow Mn^{III}TnBu-2-PyP(H_2O)_2^{5+}$.

At pH 12 there is no the oxidized or reduced MnP species that dominates the solution and the equilibrium appears to be too much involved to permit calculation of any particular formal reduction potential. However, combining the obtained value of $E^0(Mn^{IV}TnBu-2-PyP(H_2O)(OH)^{5+}/Mn^{III}TnBu-2-PyP(H_2O)_2^{5+})$ with the pK_a values from table 2 yielded the formal reduction potential of *ca* 0.58 V at pH = 12 for any hypothetical value of the first deprotonation constant of the Mn(IV) species $pK_{a1} < 9.5$. It is unlikely that the pK_{a1} is higher than 9.5 because the third absorbing species, $Mn^{IV}TnBu-2-PyP(H_2O)_2^{6+}$, should have been observed in the spectrophotometric titrations. The calculated formal reduction potential is significantly different from the observed formal potential of 0.471 V *versus* NHE, indicating that equation (5) might indeed be significant at lower pH values.

In conclusion, our results confirm that the fully deprotonated $Mn^{II}TnBu-2-PyP(=O)^{2+}$ species does not exist in a basic water solution up to pH 13. On the other hand, based on the obtained results the $Mn^{IV}TnBu-2-PyP$ inaccessible species could not be specified with certainty. It could be the fully protonated one, but because of the possible formation of $Mn^{IV}TnBu-2-PyP(H_2O)(=O)^{4+}$ in a double-deprotonation step from $Mn^{III}TnBu-2-PyP(H_2O)_2^{5+}$ the inaccessible species could also be the fully deprotonated oxo-complex. Therefore, further studies including other MnP analogues should be undertaken in order to clarify this point.

Acknowledgments

The authors are thankful to the Croatian Ministry of Science (MZOŠ grant: 006-0061247-0009) and to Duke University's CTSA grant 1 UL 1 RR024128-01 from NCRR/NIH for their financial support.

References

- [1] I. Batinić-Haberle, J.S. Reboucas, I. Spasojević. *Antioxid. Redox Signal*, (2010). DOI: 0.1089/ars.2009.2876.
- [2] D. Salvemini, S. Cuzzocrea. *Crit. Care Med.*, **31**, S29 (2003).
- [3] C. Szabó, H. Ischiropoulos, R. Radi. *Nat. Rev. Drug Discovery*, **6**, 662 (2007).

- [4] I. Spasojević, Y. Chen, T.J. Noel, Y. Yu, M.P. Cole, L. Zhang, Y. Zhao, D.K. St Clair, I. Batinić-Haberle. *Free Radical Biol. Med.*, **42**, 1193 (2007).
- [5] I. Batinić-Haberle, I. Spasojević, R.D. Stevens, B. Bondurant, A. Okado-Matsumoto, I. Fridovich, Z. Vujasković, M.W. Dewhirst. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 617 (2006).
- [6] I. Spasojević, I. Batinić-Haberle, J.S. Rebouças, Y.M. Idemori, I. Fridovich. *J. Biol. Chem.*, **278**, 6831 (2003).
- [7] I. Batinić-Haberle, L. Benov, I. Spasojević, P. Hambright, A.L. Crumbliss, I. Fridovich. *Inorg. Chem.*, **38**, 4011 (1999).
- [8] H. Saba, I. Batinić-Haberle, S. Munusamy, T. Mitchell, C. Lichti, J. Megyesi, L.A. MacMillan-Crow. *Free Radical Biol. Med.*, **42**, 1571 (2007).
- [9] Y. Zhao, L. Chaiswing, T.D. Oberley, I. Batinić-Haberle, W. St Clair, C.J. Epstein, D. St Clair. *Cancer Res.*, **65**, 1401 (2005).
- [10] I. Batinić-Haberle, M.M. Ndengele, S. Cuzzocrea, J.S. Rebouças, I. Spasojević, D. Salvemini. *Free Radical Biol. Med.*, **46**, 212 (2009).
- [11] I. Kos, J.S. Rebouças, G. DeFreitas-Silva, D. Salvemini, Ž. Vujasković, M.W. Dewhirst, I. Spasojević, I. Batinić-Haberle. *Free Radical Biol. Med.*, **47**, 72 (2009).
- [12] I. Batinić-Haberle, I. Spasojević, R.D. Stevens, P. Hambright, I. Fridovich. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2689 (2002).
- [13] J.G. Leipoldt, L.D.C. Bok, P.J. Cilliers, Z. Anorg. *Allg. Chem.*, **409**, 343 (1974).
- [14] R.W. Bucknall, W. Wardlaw. *J. Chem. Soc.*, 2981 (1927).
- [15] G.W. Gray, J.T. Spence. *Inorg. Chem.*, **10**, 2751 (2002).
- [16] P. Gans, B. O'Sullivan. *Talanta*, **51**, 33 (2000).
- [17] A.E. Martell, R.J. Motekaitis. *Determination and Use of Stability Constants*, VCH, Weinheim (1988).
- [18] D.T. Sawyer, A. Sobkowiak, J.L. Roberts. *Electrochemistry for Chemists*, 2nd Edn, John Wiley & Sons, Inc, New York (1995).
- [19] R.S. Nicholson, I. Shain. *Anal. Chem.*, **36**, 706 (1964).
- [20] H.J. Paul, J. Leddy. *Anal. Chem.*, **67**, 1661 (1995).
- [21] E. Laviron, J. Electroanal. *Chem.*, **146**, 15 (1983).
- [22] A. Harriman, G. Porter. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **2**, 1532 (1979).
- [23] F.C. Chen, S.H. Cheng, C.H. Yu, M.H. Liu, Y. Oliver Su. *J. Electroanal. Chem.*, **474**, 52 (1999).
- [24] R.W. Wagner, T.E. Johnson, J.S. Lindsey. *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 11166 (1996).
- [25] L. Alderighi, P. Gans, A. Ienco, D. Peters, A. Sabatini, A. Vacca. *Coord. Chem. Rev.*, **184**, 311 (1999).

Acid–base and electrochemical properties of manganese *meso*(*ortho*- and *meta*-*N*-ethylpyridyl)porphyrins: potentiometric, spectrophotometric and spectroelectrochemical study of protolytic and redox equilibria†

Tin Weitner,^{‡a} Ana Budimir,^a Ivan Kos,^a Ines Batinić-Haberle^b and Mladen Biruš^{*a}

Received 1st June 2010, Accepted 6th September 2010

DOI: 10.1039/c0dt00585a

The difference in electrostatics and reduction potentials between manganese *ortho*-tetrakis(*N*-ethylpyridinium-2-yl)porphyrin (MnTE-2-PyP) and manganese *meta*-tetrakis(*N*-ethylpyridinium-3-yl)porphyrin (MnTE-3-PyP) is a challenging topic, particularly because of the high likelihood for their clinical development. Hence, a detailed study of the protolytic and electrochemical speciation of Mn^{II–IV}TE-2-PyP and Mn^{II–IV}TE-3-PyP in a broad pH range has been performed using the combined spectrophotometric and potentiometric methods. The results reveal that in aqueous solutions within the pH range ~2–13 the following species exist: (H₂O)Mn^{II}TE-*m*-PyP⁴⁺, (HO)Mn^{II}TE-*m*-PyP³⁺, (H₂O)₂Mn^{III}TE-*m*-PyP⁵⁺, (HO)(H₂O)Mn^{III}TE-*m*-PyP⁴⁺, (O)(H₂O)Mn^{III}TE-*m*-PyP³⁺, (O)(H₂O)Mn^{IV}TE-*m*-PyP⁴⁺ and (O)(HO)Mn^{IV}TE-*m*-PyP³⁺ (*m* = 2, 3). All the protolytic equilibrium constants that include the accessible species as well as the thermodynamic parameters for each particular protolytic equilibrium have been determined. The corresponding formal reduction potentials related to the reduction of the above species and the thermodynamic parameters describing the accessible reduction couples were calculated as well.

Introduction

Over the last decade, there has been a great deal of interest in manganese porphyrins (MnPs) because of their unique electronic properties – robustness as oxidation catalysts. Based on structure–activity relationships where metal-centred reduction potential, *E*_{1/2}, was related to ability to disproportionate/dismute superoxide, the *ortho* Mn(III) *N*-alkylpyridylporphyrins were identified as the most potent SOD mimics.¹ We have recently shown that the water-exchange rates at Mn(III) in this type of MnPs is fast enough not to interfere with their high rates of O₂^{•−} dismutation.² Furthermore, based on their ability to easily donate or accept electrons, efficacious MnP-based SOD mimics proved to be excellent scavengers of peroxynitrite and most efficacious in favourably affecting cellular transcription activities, resolving the excessive inflammatory and immune response.^{3,4,5} Mn(III) *N*-alkylpyridylporphyrins possesses five positive charges in the proximity of the metal site and thus afford both thermodynamic and electrostatic facilitation for the reaction with anionic superoxide and peroxynitrite. Thus they proved remarkable efficacy in ameliorating diseases that have oxidative stress in common, such as central nervous system disorders, diabetes, cancer radiation injuries, *etc.* The rate of O₂^{•−} dismutation, *k*_{cat}, can conveniently be taken as an indicator of their potential as therapeutics. In addition to the ability to affect redox-based processes, their efficacy

in vivo is affected by their bioavailability. This in turn is affected by their lipophilicity, shape, size, rotational flexibility, *etc.* The comprehensive study on SOD-deficient *E. coli* shows that *meta* isomer, MnTE-3-PyP⁵⁺, with 10-fold lower *k*_{cat} provides same efficacy in protecting *E. coli* as *ortho* isomer, MnTE-2-PyP⁵⁺, due to 10-fold higher lipophilicity, which in turn results in 10-fold higher cellular accumulation. Thus both *ortho* and *meta* isomers of *N*-ethylpyridylporphyrin may be considered perspective therapeutics. While the O₂^{•−} dismutation involves the Mn^{III}P/Mn^{II}P redox-couple, the removal of peroxynitrite (ONOO[−]) is widely considered as a major damaging species *in vivo* occurs through its binding to the Mn(II) site followed by its two-electron reduction to NO₂[−] along with oxidation of Mn^{II}P to Mn^{IV}P.⁶

Hence, the basic chemistry of manganese(II–IV) *ortho*-tetrakis(*N*-ethylpyridinium-2-yl)porphyrin and *meta*-tetrakis(*N*-ethylpyridinium-3-yl)porphyrin (Fig. 1a and 1b), related to the Mn site which is responsible for their ability to affect redox-based cellular signalling processes, is addressed in this study.

Although biological relevance of MnPs was the primary reason for conducting this study, an additional reason to undertake it was the observation of a strong effect of a slight positional change of ethylpyridinium substituents on the lipophilicity, the metal-centered formal reduction potential and the antioxidant capacity of the MnPs.

The reduction potentials for diaqua Mn^{III}P/Mn^{II}P and Mn^{IV}P/Mn^{III}P couples have been reported,^{7,8,9} but several reports differ in the identities of all relevant species, or the data have been collected under different experimental conditions. A great variety of different complex species have been proposed so far, as for instance (O)₂Mn^{IV}P, (O)(HO)Mn^{III}P and Mn^{II}P,¹⁰ (H₂O)₂Mn^{IV}P and (HO)(H₂O)Mn^{IV}P,^{11,12} as well as (HO)(H₂O)Mn^{IV}P species.⁹ However, none of the papers report the ionic strength, which has been shown to affect the proton dissociation of the complexes to

^aUniversity of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, A. Kovačića 1, Zagreb, 10000, Croatia

^bDuke University Medical School, Department of Radiation Oncology, Durham, NC, 27710, USA

† Electronic supplementary information (ESI) available: Figures S1–S14 and Tables S1–S2. See DOI: 10.1039/c0dt00585a

‡ Taken in part from Tin Weitner's PhD thesis submitted to the University of Zagreb.

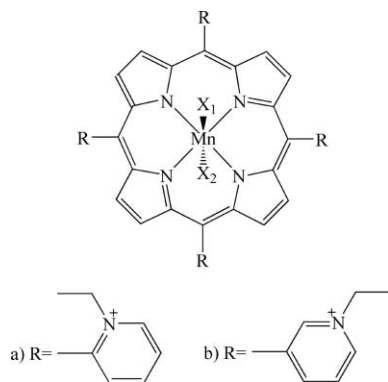


Fig. 1 a) Manganese *ortho*-tetrakis(*N*-ethylpyridinium-2-yl)porphyrin \equiv MnTE-2-PyP. b) Manganese *meta*-tetrakis(*N*-ethylpyridinium-3-yl)porphyrin \equiv MnTE-3-PyP. X_1 and X_2 stand for the aqua, hydroxo, or/and oxo ligand(s), with X_2 not necessarily included.

a great extent.¹³ On the other hand, the obtained thermodynamic parameters of manganese *ortho*-tetrakis(*N*-*n*-butylpyridinium-2-yl)porphyrin (MnTnBu-2-PyP) deprotonation have not supported the identification of the $(O)(H_2O)Mn^{IV}$ complex as the “fully” protonated Mn^{IV} species in an aqueous solution $4 < pH < 13.13$

In order to improve our understanding of the rather complex behaviour of MnPs, in this work we report the results of a detailed study of the protolytic and electrochemical speciation of $Mn^{II-IV}TE-2-PyP$ and $Mn^{II-IV}TE-3-PyP$ in a broad pH range. The difference in electrostatics and reduction potentials of these two isomers is a challenging topic, particularly because of the high likelihood for their clinical development.

Experimental

Throughout the experiments, double distilled water and the highest purity chemicals were used. The measurements were performed under an N_2 or Ar atmosphere. The buffers used were prepared from CH_3COONa (Sigma), $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ (Riedel-de Haën), CAPS (*N*-cyclohexyl-3-aminopropanesulfonic acid) (Sigma), $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ (Merck) and NaH_2PO_4 (Merck). The pH of aqueous solutions was determined on a Mettler DL50 titrator with a Mettler DG111-SC glass electrode and a thermostatted titration vessel. The pH electrode was calibrated by titration of a strong acid with a strong base in 2M $NaClO_4$.

The investigated metalloporphyrins, $Mn^{III}TE-2-PyP$ and $Mn^{III}TE-3-PyP$, were synthesized according to the published procedures.^{14,15} Mn^{II} Ps were prepared by the reduction of Mn^{III} Ps with ascorbic acid (Fluka), whereas the oxidation of Mn^{II} Ps was performed by $K_3[Mo(CN)_8]$ prepared according to published procedure^{16,17} immediately before the experimental measurements. An equimolar solution of octacyanomolybdate(V/IV) was prepared by oxidation of $K_4[Mo(CN)_8]$ with $KMnO_4$ in perchloric acid and the formed $Mn^{2+}(aq)$ was quantitatively removed by filtration of precipitated $Mn(OH)_2$ formed upon the addition of 0.1 M NaOH. The concentration of $K_3[Mo(CN)_8]$ was determined spectrophotometrically ($\epsilon_{388} = 1360 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).¹⁸

The UV-Vis spectra were recorded on a Cary 50 spectrophotometer equipped with an optic fiber immersion probe and a thermostatted titration vessel or a thermostatted cell holder.

BASi SEC-C thin layer quartz glass spectroelectrochemical cell with 1 mm light path and Princeton Applied Research PAR-273A potentiostat were used for spectroelectrochemical measurements (SEC). As the working, reference, and auxiliary electrode an 80-mesh Pt-gauze, a Ag/AgCl standard electrode (3M NaCl) and a platinum wire were used, respectively. The potentials are reported vs. standard hydrogen electrode (SHE, referring to the hydrogen pressure of 1 bar).

Results

Acid–base properties of $MnTE-m-PyP$ ($m = 2, 3$) complexes

Deprotonation of $Mn^{III}TE-m-PyP$. In an aqueous solution, MnPs can axially coordinate water molecules, which can deprotonate to hydroxo- and/or oxo-complexes, depending on the oxidation state and pH. Such deprotonation is usually associated with an immediate spectral change observable in the UV-Vis spectral region. The observed spectral change of the $Mn^{III}TE-2-PyP$ in an aqueous solution as function of pH is shown in Fig. 2. Since no spectral change has been observed from pH 9 down to pH 1.5, these spectra are not shown in the figure.

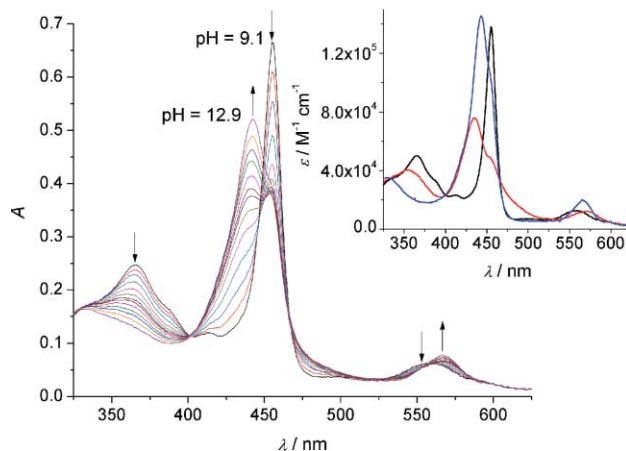


Fig. 2 A typical titration profile of $4.8 \mu\text{M}$ $Mn^{III}TE-2-PyP$ in 2 M $NaClO_4$ with 0.2 M NaOH ($\theta = 25^\circ\text{C}$, $l = 1 \text{ cm}$). The pH values of the solution were varied within the pH-range 9.1–12.9 (for the sake of clarity not all measured spectra are shown). **Inset:** The theoretical spectra of the protonated (black), mono-deprotonated (red), and double-deprotonated (blue) species.

An absence of isosbestic points during the titration clearly indicates an involved equilibrium that includes at least three absorbing species. Indeed, the spectral analysis by the SPECFIT^{19,20,21} program confirmed three relevant absorbing species related through the acid–base equilibrium defined by two pK_a -s. Fitting such a reaction model to the experimental data resulted in the following values: $pK_{a1} = 10.89 \pm 0.01$ and $pK_{a2} = 11.62 \pm 0.02$. The inset of Fig. 2 illustrates the theoretical spectra of the relevant species predicted from the fit.

A similar spectral change as function of pH in an aqueous solution was observed for $Mn^{III}TE-3-PyP$ and is shown in Fig. S1.† Fitting the model to the experimental data resulted in the following values: $pK_{a1} = 11.57 \pm 0.01$ and $pK_{a2} = 12.70 \pm 0.09$.

Deprotonation of $Mn^{II}TE-m-PyP$. Since in acidic medium Mn^{II} Ps decompose to free metal ions and the porphyrin ligand,²²

it was necessary to determine the acidity range in which the Mn^{II} Ps were stable enough to perform the titrations. Hence, an aqueous solution of each Mn^{II} P was adjusted to a particular pH, purged with argon in a SEC UV-Vis cell and a negative potential of *ca.* -250 mV vs. the formal potential of a particular Mn^{II} P was applied to the Pt-electrodes inserted in the solution. The time-dependent spectral changes observed for both Mn^{III} Ps, continuously monitored for *ca.* 30 min in an anaerobic cell at constant pH (Fig. S2 and S3, respectively),[†] confirm the thermodynamic lability of both Mn^{II} Ps. After the initial reduction at $\text{pH} \leq 2$, an “irreversible” decomposition of the formed Mn^{II} TE-2-PyP was observed, characterized by the formation of a species with an absorbance maximum characteristic of the free porphyrin ($\text{H}_2\text{TE-2-PyP}$, $\lambda_{\text{max}} = 415$ nm). The observed spectral changes at pH 4 and 8 are similar, except that at pH 4 the formed product cannot be quantitatively re-oxidized to Mn^{III} TE-2-PyP. This is an indication of the proton-concentration dependence of the decomposition rate. Mn^{II} TE-3-PyP was found to be even more unstable, since the extensive decomposition of this complex to the free metal ion and the porphyrin ligand was observed already at pH 4. Therefore, the “safe” acidity ranges for the acid–base titrations of both Mn^{II} Ps were established at $\text{pH} > 7$.

Maintenance of the total MnTE-2-PyP in reduced form was accomplished by the addition of 1 mM ascorbic acid and by keeping aqueous solutions under purified argon. The observed spectral change of Mn^{II} TE-2-PyP in an aqueous solution in the presence of ascorbic acid as a function of pH is shown in Fig. 3.

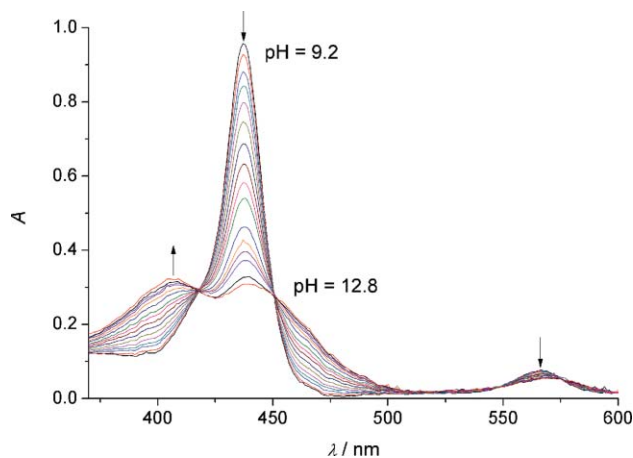


Fig. 3 A typical titration profile of $5 \mu\text{M}$ Mn^{II} TE-2-PyP in 2 M NaClO_4 with 0.2 M NaOH , ($\theta = 25^\circ\text{C}$, $l = 1 \text{ cm}$). The pH values of the solution were varied within the pH-range 9.2–12.8 (for the sake of clarity not all measured spectra are shown).

The SPECFIT factor analysis reveals two relevant absorbing species present in the solution, but the existence of the third one could not be definitively ruled out. Therefore, the observed spectral data were fitted to two different models, one affording two spectral species and one pK_a value and another one affording three spectral species and two pK_a -s. Fitting the former model to the experimental spectral data resulted in the value of $\text{pK}_a = 11.75 \pm 0.01$, whereas fitting the latter model to the same experimental data resulted in $\text{pK}_{a1} = 9.7 \pm 0.2$ and $\text{pK}_{a2} = 11.76 \pm 0.01$.

The 3-species model for Mn^{II} TE-2-PyP deprotonation produces a slightly better fit, which can be expected due to more degrees

of freedom. Standard deviation for that model is only slightly better than the one for the 2-species model ($\sigma = 1.8 \times 10^{-3}$ vs. $\sigma = 2.1 \times 10^{-3}$) and the residuals of spectral data are very similar for both models. However, the theoretical spectra of the fully protonated and monodeprotonated species of Mn^{II} TE-2-PyP in the 3-species model are practically identical (Fig. S4),[†] and the calculated pK_{a1} value has a ten times larger standard deviation than pK_{a2} . Furthermore, the pK_a value for the 2-species model is remarkably similar to pK_{a2} for the 3-species model. In conclusion, our result on the acid–base equilibrium of Mn^{II} TE-2-PyP confirms only one pK_a with certainty, while the other one is not supported by the current experimental data.

The observed visible spectral change of the Mn^{II} TE-3-PyP in the presence of ascorbic acid as a function of pH is similar to the one obtained for Mn^{II} TE-2-PyP and is shown in Fig. S5,[†] but to maintain the total MnTE-3-PyP in its reduced form, an addition of 10 mM ascorbic acid was necessary. Fitting the 2-species model including a single-proton dissociation to the experimental data resulted in the value of $\text{pK}_a = 12.04 \pm 0.03$. The theoretical spectra of the involved species (inset of Fig. S5)[†] reveal the similarity of the two studied Mn^{II} Ps. It is worth noting that the spectra of Mn^{II} TE-3-PyP obtained by either the electrochemical reduction or the chemical reduction with ascorbic acid, match each other more than satisfactorily (Fig. S6).[†]

Deprotonation of Mn^{IV} TE-*m*-PyP. In order to determine the deprotonation patterns of the Mn^{IV} Ps, the spectrophotometric pH-titrations were performed under purified argon in the presence of an efficient oxidant. Maintenance of the total MnTE-2-PyP in oxidized form in mildly basic conditions was achieved with 0.1 mM $[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}$. Dependence of the observed visible spectrum of Mn^{IV} TE-2-PyP in an aqueous solution on pH is shown in Fig. 4. Above pH 12.3 no further spectral change has been observed and these data are not shown in the figure.

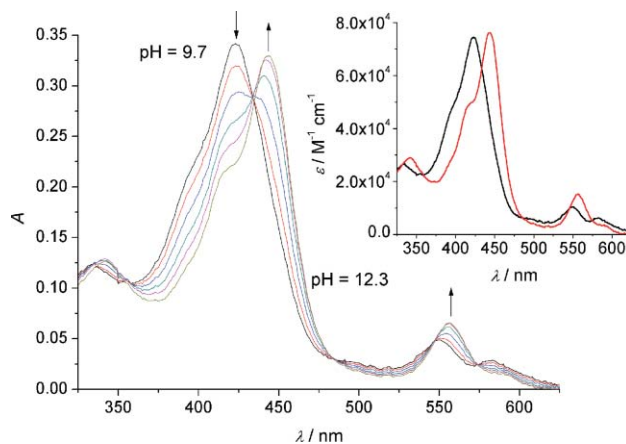


Fig. 4 A typical titration profile of $4.6 \mu\text{M}$ Mn^{IV} TE-2-PyP in 2 M NaClO_4 with 0.2 M NaOH ($\theta = 25^\circ\text{C}$, $l = 1 \text{ cm}$), in the presence of 0.1 mM $[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}$. The pH values of the solution were varied within the pH-range 9.7–12.3 (for the sake of clarity not all measured spectra are shown). **Inset:** The theoretical spectra of protonated (black) and deprotonated (red) species.

The spectral analysis revealed two relevant absorbing species related through a single-proton exchange. Fitting the model to the experimental data resulted in the value of $\text{pK}_a = 11.14 \pm 0.02$. The

predicted theoretical spectra of relevant species are shown as an inset in Fig. 4. Below pH 9.7 the reduced form of the complex is extremely stabilized and a possible deprotonation constant in that pH range was inaccessible by the presented type of experiments.

The titration of Mn^{IV}TE-3-PyP was carried out under very similar experimental conditions as described for Mn^{IV}TE-2-PyP, and the observed spectral change is similar as well (Fig. S7).† The spectral analysis using the SPECFIT program again revealed only two relevant absorbing species and fitting this model to the experimental data resulted in a single value of $pK_a = 11.99 \pm 0.04$.

Electrochemical properties of MnTE-*m*-PyP (*m* = 2, 3) complexes

As presented above, the deprotonations of each Mn^{III}P and Mn^{IV}P were found to be characterized by only one pK_a . Based on these results alone, structures of the species linked by a single proton exchange cannot be distinguished. In order to resolve this ambiguity we set up a new series of experiments including pH-spectrophotometric titrations of both MnPs in the presence of either ascorbic acid or octacyanomolybdate(v) but with the particular MnP present in two oxidation states. The obtained results allow relating the thermodynamic parameters of the investigated acid–base equilibria to the formal reduction potentials of each couple, as well as the number of transferred electrons to the number of protons transferred in the equilibria involved.

Reduction of Mn^{III}Ps with ascorbate. In order to determine the values of the formal reduction potential for the studied Mn^{III}P/Mn^{II}P couples, the spectrophotometric titrations were performed in the presence of ascorbic acid, with respect to the “safe” acidity range. The spectral data reveal a gradual reduction of both MnPs with ascorbic acid upon addition of NaOH to the solutions.

The oxidation of ascorbate, Asc^{2-} , proceeds through two distinct steps. The first-step formation of a free-radical anion, $\text{Asc}^{\cdot-}$, is followed by a very fast disproportionation of the formed radical yielding ascorbate dianion and dehydroascorbic acid: $2\text{Asc}^{\cdot-} \rightleftharpoons \text{Asc}^{2-} + \text{D}$.²³ Dehydroascorbic acid is further transformed to the final product by a relatively slow but irreversible reaction.²⁴ Therefore, in order to maintain the “reversibility” of the studied redox reactions during the spectrophotometric titrations, each spectrum has been measured immediately after mixing the reactants at the appropriate pH, thus avoiding the degradation of both Mn^{II}Ps and dehydroascorbic acid.

Fig. 5 and Fig. S8† show the spectral changes of Mn^{III}TE-2-PyP and Mn^{III}TE-3-PyP in the presence of a large molar excess of ascorbic acid upon addition of NaOH, respectively. In both experiments the concentration of dehydroascorbic acid was maintained constant and in a large molar excess over MnPs by the initial addition of ferricyanide to oxidize a part of ascorbate according to the reaction: $2[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3+} + \text{Asc}^{2-} \rightleftharpoons 2[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{2+} + \text{D}$.

The spectral analyses of the data indicate two absorbing species for each MnP, related through a proton dissociation reaction: $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{\text{H}^+} \rightleftharpoons \text{Mn}^{\text{II}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{(n-1)+} + \text{H}^+$, with the apparent reaction equilibrium constant defined as:

$$K_{\text{red.}} = \frac{[\text{Mn}^{\text{II}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{4+}][\text{H}^+]}{[\text{Mn}^{\text{III}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{5+}]} \quad (1)$$

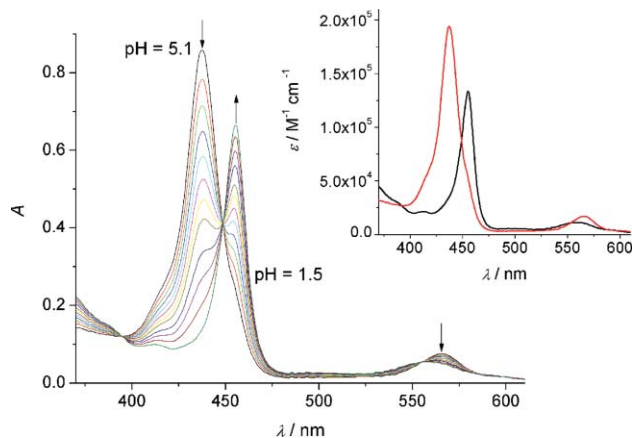


Fig. 5 A typical titration profile of (4.9 μM Mn^{III}TE-2-PyP + 20 mM ascorbic acid + 0.5 mM [Fe(CN)₆]³⁻) in 2 M NaClO₄ with 0.2 M NaOH ($\theta = 25^\circ\text{C}$, $l = 1\text{ cm}$). The pH values were varied within the pH-range 1.5–5.1 (for the sake of clarity not all measured spectra are shown). **Inset:** The theoretical spectra of Mn^{III}TE-2-PyP⁵⁺ (black) and Mn^{II}TE-2-PyP⁴⁺ (red).

The data shown in Fig. 5 and Fig. S8† were fitted in order to determine the half-reduction points, *i.e.* the pH values at which $[\text{Mn}^{\text{II}}\text{TE-}m\text{-PyP}]/[\text{Mn}^{\text{III}}\text{TE-}m\text{-PyP}] = 1$. For Mn^{III}TE-2-PyP and Mn^{III}TE-3-PyP the calculated half-reductions are found at $\text{pH} = pK_{\text{red.}} = 3.21 \pm 0.02$ and $\text{pH} = pK_{\text{red.}} = 8.84 \pm 0.04$, respectively. The theoretical spectra shown in the insets of these two figures are in excellent agreement with the theoretical spectra of the same species obtained by the separate spectrophotometric pH-titrations of each MnP: Mn^{III}TE-2-PyP⁵⁺ (Fig. 2), Mn^{II}TE-2-PyP⁴⁺ (Fig. 3), Mn^{III}TE-3-PyP⁵⁺ (Fig. S1)† and Mn^{II}TE-3-PyP⁴⁺ (Fig. S5).†

The formal reduction potential of ascorbic acid, $E_{\text{D,H}^+/\text{H}_2\text{Asc}}^{0'} = +390\text{ mV}$,²⁵ is pH-dependent due to the deprotonations of H₂Asc. Our potentiometric titration of ascorbic acid in 2 M NaClO₄ at 25°C afforded the values of $pK_{\text{a1A}} = 4.21 \pm 0.03$ and $pK_{\text{a2A}} = 11.13 \pm 0.05$. The Nernst equation for the potential of D, H⁺/H₂Asc couple expressed in terms of total concentrations of both ascorbic acid and dehydroascorbic acid at 25°C is therefore:

$$E = E_{\text{D,H}^+/\text{H}_2\text{Asc}}^{0'} - \frac{0.0591}{2} \log \frac{[\text{Asc}]_{\text{tot}}}{\left([\text{H}^+]^2 + [\text{H}^+] K_{\text{a1A}} + K_{\text{a1A}} K_{\text{a2A}} \right) [\text{D}]_{\text{tot}}} \quad (2)$$

Using eqn (2), the potentials of the 0.25 mM dehydroascorbic acid/19.75 mM ascorbic acid couple at $\text{pH} = 8.84$ and $\text{pH} = 3.21$ can be calculated as -52 mV and $+145\text{ mV}$, respectively. Since the reaction solutions were left to equilibrate at each point of the titration, the calculated potentials equal the formal reduction potentials of fully protonated Mn^{III}P/Mn^{II}P couples.

Oxidation of Mn^{III}Ps with octacyanomolybdate(v). Below pH 10, in the presence of octacyanomolybdate(v), the investigated porphyrin complexes were mixtures of Mn(III)/(IV) oxidation states. The reactions of both Mn^{III}Ps with octacyanomolybdate(v) can be written as: $\text{Mn}^{\text{III}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{5+} + [\text{Mo}^{\text{V}}(\text{CN})_8]^{3-} \rightleftharpoons \text{Mn}^{\text{IV}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{6+} + [\text{Mo}^{\text{IV}}(\text{CN})_8]^{4-}$. By a gradual increase of pH from neutral up to 10, a 0.1 mM [Mo(CN)₈]³⁻ gradually oxidizes either of the Mn^{III}Ps in solution. The spectral changes caused by the addition

Table 1 Thermodynamic data and deprotonation constants at 25 °C, $I = 2$ M NaClO₄ (assigned as in Scheme 1) of manganese alkylpyridyl complexes

Species	$pK_{a1} \pm \sigma$	$\Delta_{a1}H^a \pm \sigma$	$\Delta_{a1}S^b \pm \sigma$	$pK_{a2} \pm \sigma$	$\Delta_{a2}H \pm \sigma$	$\Delta_{a2}S \pm \sigma$	$pK_{a3} \pm \sigma$	$\Delta_{a3}H \pm \sigma$	$\Delta_{a3}S \pm \sigma$	Ref.
Mn ^{III} TE-2-PyP	11.75 ± 0.01	—	—	—	—	—	—	—	—	This work
Mn ^{III} TE-3-PyP	12.04 ± 0.03	—	—	—	—	—	—	—	—	This work
Mn ^{III} TnBu-2-PyP	11.99 ± 0.03	59 ± 2	−32 ± 7	—	—	—	—	—	—	13
Mn ^{III} TE-2-PyP	10.89 ± 0.01	49 ± 1	−44 ± 3	11.62 ± 0.02	48 ± 3	−62 ± 11	—	—	—	This work
Mn ^{III} TE-3-PyP	11.57 ± 0.01	51 ± 3	−51 ± 9	12.70 ± 0.09	51 ± 3	−72 ± 11	—	—	—	This work
Mn ^{III} TnBu-2-PyP	11.36 ± 0.01	60 ± 2	−16 ± 8	12.33 ± 0.01	49 ± 3	−67 ± 8	—	—	—	13
Mn ^{IV} TE-2-PyP	—	—	—	—	—	—	11.14 ± 0.02	52 ± 3	−37 ± 11	This work
Mn ^{IV} TE-3-PyP	—	—	—	—	—	—	11.99 ± 0.04	50 ± 6	−59 ± 19	This work
Mn ^{IV} TnBu-2-PyP	—	—	—	—	—	—	11.78 ± 0.02	48 ± 2	−63 ± 7	13

^a Reaction enthalpies are given in kJ mol^{−1}. ^b Reaction entropies are given in J K^{−1} mol^{−1}.

of NaOH to the neutral solutions of MnTE-2-PyP and MnTE-3-PyP in the presence of equimolar octacyanomolybdate(V/IV) are shown in Fig. 6 and Fig. S9,† respectively.

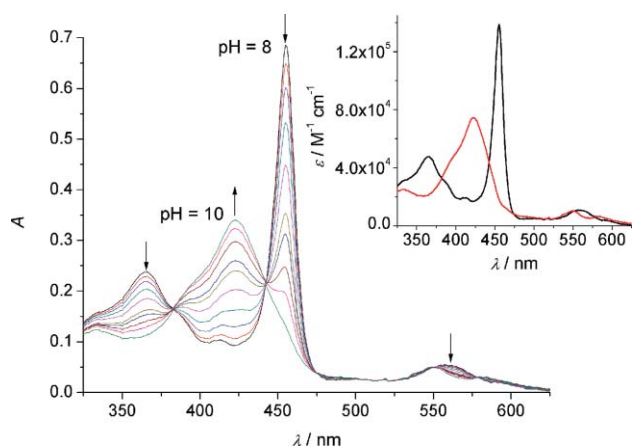


Fig. 6 A typical titration profile of 5 μM Mn^{III}TE-2-PyP in 2 M NaClO₄ with 0.2 M NaOH ($\theta = 25$ °C, $l = 1$ cm) in the presence of 0.1 mM [Mo(CN)₈]^{3−} and 0.1 mM [Mo(CN)₈]^{4−}. The pH values of the solution were varied within the pH-range 8–10 (for the sake of clarity not all measured spectra are shown). **Inset:** The theoretical spectra of the reduced (black) and oxidized forms of MnTE-2-PyP (red).

For each MnP, the SPECFIT spectral analyses indicate two absorbing species related through the simultaneous dissociation of two protons. The formal reduction potential of octacyanomolybdate has been determined as $E_{[Mo(CN)_8]^{4-}/[Mo(CN)_8]^{3-}}^{0'} = +870$ mV by CV experiments in 2 M NaClO₄. Within the studied pH range, this formal reduction potential is pH-independent and the observed pH-dependence of measured spectra must be a consequence of the MnPs' deprotonation. Furthermore, as the above presented results on the proton dissociation reveal that within the used pH range both Mn^{III}Ps deprotonate negligibly, the observed proton dependence must be attributed solely to a double deprotonation of Mn^{IV}Ps species. Therefore, an oxidation half-reaction suitable to the observed spectral changes can be written as: $(H_2O)_2Mn^{III}TE-m-PyP^{5+} \rightleftharpoons (O)(H_2O)Mn^{IV}TE-m-PyP^{4+} + 2H^+ + e^-$, characterized by the following apparent equilibrium constant:

$$K_{app.} = \frac{[(O)(H_2O)Mn^{IV}TE-m-PyP^{4+}][H^+]^2}{[(H_2O)_2Mn^{III}TE-m-PyP^{5+}]} \quad (3)$$

Table 2 The formal reduction potentials for the one-electron couples obtained by the spectrophotometric pH titrations at $\theta = 25$ °C, $I = 2$ M (NaClO₄), assigned as in Scheme 1

Formal potential	MnTE-3-PyP ($E^{0'} \pm \sigma$)/V	MnTE-2-PyP ($E^{0'} \pm \sigma$)/V	MnTnBu-2-PyP ($E^{0'} \pm \sigma$)/V ^a
$E_1^{0'}$	−0.052 ± 0.001	+0.145 ± 0.001	+0.203
$E_2^{0'}$	−0.080 ± 0.001	+0.094 ± 0.001	+0.191
$E_6^{0'}$	+0.479 ± 0.001	+0.578 ± 0.001	+0.399

^a Values taken from reference 13

Fitting the proposed model to the experimental data resulted in the value of $pK_{app.} = 17.71 \pm 0.02$ and $pK_{app.} = 17.85 \pm 0.01$ for $(H_2O)_2Mn^{III}TE-2-PyP^{5+}$ and $(H_2O)_2Mn^{III}TE-3-PyP^{5+}$, respectively. The theoretical spectra shown in the inset of these two figures are again in excellent agreement with the theoretical spectra of the same species obtained by the separate spectrophotometric pH-titrations of each MnP: Mn^{III}TE-2-PyP⁵⁺ (Fig. 2), Mn^{IV}TE-2-PyP⁴⁺ (Fig. 4), Mn^{III}TE-3-PyP⁵⁺ (Fig. S1)† and Mn^{IV}TE-3-PyP⁴⁺ (Fig. S7).†

Taking the above mentioned into account, the experimental data should be fully depicted by the redox reaction: $(H_2O)_2Mn^{III}TE-m-PyP^{5+} + [Mo(CN)_8]^{3-} \rightleftharpoons (O)(H_2O)Mn^{IV}TE-m-PyP^{4+} + [Mo(CN)_8]^{4-} + 2H^+$, and the equilibrium constant given by eqn (4).

$$K_{ox.} = \frac{[(O)(H_2O)Mn^{IV}TE-m-PyP^{4+}][[Mo(CN)_8]^{4-}][H^+]^2}{[(H_2O)_2Mn^{III}TE-m-PyP^{5+}][[Mo(CN)_8]^{3-}]} \quad (4)$$

Considering that the concentrations of [Mo(CN)₈]^{3−} and [Mo(CN)₈]^{4−} were practically equal during the entire titrations (the total octacyanomolybdate is in a very large molar excess over MnPs), the calculated values of $K_{ox.}$ for the two MnPs numerically equal the corresponding values of $K_{app.}$ given above. From the values of $K_{ox.}$ and the deprotonation constants listed in Table 1 for the two MnPs, the values of the formal reduction potentials of individual species were easily calculated from Nernst equation and are listed in Table 2.

Thermodynamics of deprotonation of Mn^XTE-*m*-PyP (X = III, IV; *m* = 2, 3) complexes

In an attempt to identify the species of MnPs involved in the reaction with octacyanomolybdate(v) (Fig. 6 and Fig. S9†), we have performed additional pH-spectrophotometric titrations of

Table 3 Thermodynamic data for the accessible redox couples of the studied manganese porphyrin complexes obtained in 2 M NaClO₄. The values were calculated from formal redox potentials vs. SHE

Couple	Parameter ^{a, b}	
	$\Delta H^\circ \pm \sigma$	$\Delta S^\circ \pm \sigma$
(O)(H ₂ O)Mn ^{IV} TE-2-PyP ⁴⁺ + 2H ⁺ + e ⁻ → (H ₂ O) ₂ Mn ^{III} TE-2-PyP ⁵⁺	-182 ± 5	+8 ± 18
(O)(H ₂ O)Mn ^{IV} TE-2-PyP ⁴⁺ + H ⁺ + e ⁻ → (HO)(H ₂ O)Mn ^{III} TE-2-PyP ⁴⁺	-133 ± 8	-36 ± 21
(O)(H ₂ O)Mn ^{IV} TE-2-PyP ⁴⁺ + e ⁻ → (O)(H ₂ O)Mn ^{III} TE-2-PyP ³⁺	-85 ± 11	-98 ± 32
(O)(HO)Mn ^{IV} TE-2-PyP ⁴⁺ + 2H ⁺ + e ⁻ → (HO)(H ₂ O)Mn ^{III} TE-2-PyP ⁵⁺	-185 ± 11	+1 ± 32
(O)(H ₂ O)Mn ^{IV} TE-3-PyP ⁴⁺ + 2H ⁺ + e ⁻ → (H ₂ O) ₂ Mn ^{III} TE-3-PyP ⁵⁺	-174 ± 5	+37 ± 16
(O)(H ₂ O)Mn ^{IV} TE-3-PyP ⁴⁺ + H ⁺ + e ⁻ → (HO)(H ₂ O)Mn ^{III} TE-3-PyP ⁴⁺	-123 ± 8	-14 ± 25
(O)(H ₂ O)Mn ^{IV} TE-3-PyP ⁴⁺ + e ⁻ → (O)(H ₂ O)Mn ^{III} TE-3-PyP ³⁺	-72 ± 11	-86 ± 36
(O)(HO)Mn ^{IV} TE-3-PyP ⁴⁺ + 2H ⁺ + e ⁻ → (HO)(H ₂ O)Mn ^{III} TE-3-PyP ⁵⁺	-173 ± 14	+45 ± 44

^a Reaction enthalpies are given in kJ mol⁻¹. ^b Reaction entropies are given in J K⁻¹ mol⁻¹.

both MnPs in the temperature range from 15 °C to 35 °C. The variations of the observed ionization constants of Mn^{III}Ps and Mn^{IV}Ps with temperature are presented in Fig. S10 and S11,† respectively. An excellent linearity of the van't Hoff plots was obtained with the correlation coefficients 0.947 < *R* < 0.992. From the intercepts and slopes of van't Hoff plots, the reaction enthalpies and entropies were calculated and are given in Table 1.

Thermodynamics of oxidation of Mn^XTE-*m*-PyP (X = III, IV; *m* = 2, 3) complexes with octacyanomolybdate(v)

In order to evaluate the thermodynamic parameters for the Mn^{IV/III}Ps electron-transfer reactions, the temperature dependences of *K*_{app}, defined by eqn (3) were also examined in the temperature range from 15 °C to 35 °C. The values of *K*_{app}, determined at different temperatures and the measured temperature dependence of the formal reduction potential of octacyanomolybdate (Fig. S12)† combined with the reported value of absolute reduction potential of hydrogen gas electrode (*E*⁰ = +4.44 V)²⁶ enabled the construction of plots for the temperature dependence of both the formal and the absolute reduction potentials of (O)(H₂O)Mn^{IV}TE-*m*-PyP⁴⁺, 2H⁺/(H₂O)₂Mn^{III}TE-*m*-PyP⁵⁺ redox couples (Fig. S13 and S14).† Omitting the variation in heat capacity in the temperature interval from 288.15 K to 303.15 K, the thermodynamic parameters can be calculated from the slopes of *E*⁰ vs. *T* and *E*⁰ vs. *T* ($\Delta S = nF\Delta E/\Delta T$ and $\Delta H = -nFE + T\Delta S$), resulting in the values given in Tables 3 and S1.†

Discussion

The equilibrium spectrophotometric measurements reveal three forms of Mn^{III}Ps within the studied pH range (1.5 < pH < 13). Considering the different experimental conditions used, the obtained values of the deprotonation constants of Mn^{III}Ps are quite close to the ones reported for similar complexes, *e.g.* the methyl analogues of the studied porphyrins (p*K*_{a1}(Mn^{III}TM-2-PyP) = 10.5, p*K*_{a2}(Mn^{III}TM-2-PyP) = 11.4, p*K*_{a1}(Mn^{III}TM-3-PyP) = 11.5, and p*K*_{a2}(Mn^{III}TM-3-PyP) = 13.2, p*K*_{a1}(Mn^{III}TnBu-2-PyP) = 10.3, p*K*_{a2}(Mn^{III}TnBu-2-PyP) = 11.2).^{6,27,28} Since the titrations were carried out down to pH 1.5, it can be safely assumed that the observed fully deprotonated species of both Mn^{III}Ps are diaqua complexes, with two axially coordinated water molecules.

On the other hand, only two forms of Mn^{II}Ps could be experimentally identified. The question that arises is which species

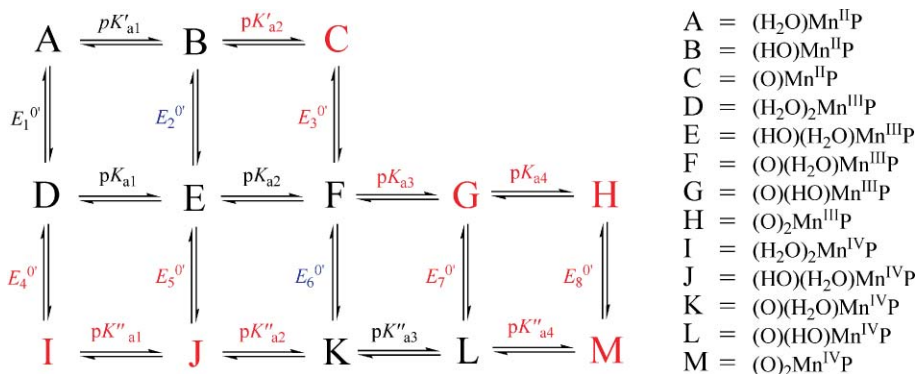
is experimentally inaccessible. This dilemma was resolved by combining the results of acid/base titrations when total MnPs were reduced, with the results of the titrations when the manganese in MnPs existed in both +2 and +3 oxidation states. When Mn^{III}Ps were titrated with NaOH in the presence of ascorbic acid in the pH region where only their fully protonated (diaqua species) complexes exist, the redox reactions were accomplished by no proton exchange on the MnPs. Obviously, the experimentally accessible Mn^{II}Ps species are the fully protonated and the mono-deprotonated ones.

The inability to detect fully deprotonated Mn^{II}Ps came rather as a surprise, considering that during the titrations the pH of the solutions was increased up to 13. However, in contrast to the Mn^{III}Ps and the Mn^{IV}Ps, the Mn^{II}Ps coordinate only one axial water molecule²⁹ because of an increase of the manganese ion radius upon its reduction. In turn, manganese is inserted slightly above the porphyrin plane, one of the coordinated water is driven away, the thermodynamic stability is decreased and the kinetic inertness of Mn^{II}Ps in acidic medium is lost, leading to the observed decomposition of the complexes (Fig. S2 and S3).†

For the same reason, the species that would form upon a full deprotonation of Mn^{II}TE-2-PyP must coordinate only an oxo-ligand. Such a complex may be destabilized by the unfavourable solvent reorganizations caused both by the overall charge decrease of the complex and a charge redistribution within the complex species induced by a strong π -bonding of oxo-ligand to the central Mn(II) ion. A plausible model for the deprotonation and redox reactions of Mn^{III/II}Ps, based on the above mentioned arguments, is depicted by the reaction Scheme 1 and the values of the deprotonation constants obtained according to this model are listed in Table 1.

Based on the fitting procedure, only two forms of Mn^{IV}Ps were identified in aqueous solutions. It should be noted that the inability to detect more protolytically related species is a consequence of our inability to maintain total MnPs in the +4 oxidation state below pH 10, which limited the pH range of titrations. It has been shown that Mn^{IV}Ps are unstable, particularly at a low pH, reacting with water to regenerate Mn^{III}Ps.¹² Hence, though we could have chosen a much stronger oxidant than octacyanomolybdate, a possible interference of the water oxidation prevented such an option.

Besides the question of identification of the experimentally inaccessible species, an additional question is whether the observed deprotonated complexes have coordinated water molecule(s) at all. An increase of positive charge on the manganese is expected



Scheme 1 The equilibria describing the observed behaviour of MnPs in aqueous solutions. The directly determined, the indirectly determined and the experimentally inaccessible equilibrium constants, the formal reduction potentials and the species involved are coloured black, blue, and red, respectively.

to increase the acidity of the coordinated water molecules.³⁰ According to Scheme 1, the oxidation of $(\text{H}_2\text{O})_2\text{Mn}^{\text{III}}\text{P}^{5+}$ could be accompanied by the observed double-deprotonation only if $\text{p}K''_{\text{a}2} < 9$. This implies at least a four-units decrease of $\text{p}K_{\text{a}}$ upon oxidation of Mn(III) to Mn(IV). Therefore, it appears that under the studied experimental conditions for both $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{Ps}$ the experimentally inaccessible species are the diaqua-, hydroxo-aqua-, and dioxo-complexes.

On the basis of the obtained results, Scheme 1 is proposed to depict all of the reactions involved in the equilibrium embedding all the relevant complex species. The vertically presented reactions are more conveniently characterized by the formal reduction potentials, as shown in Table 2, rather than by the $\text{p}K$ values. The combination of the calculated values of K_{ox} with the determined $E_{[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{4-}/[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}}$, as well as the calculated values of K_{red} with the reported $E_{\text{D},\text{H}^+/\text{H}_2\text{Asc}}$, afforded the calculation of the relevant formal reduction potentials $E_1^{0'}$, $E_2^{0'}$ and $E_6^{0'}$ given in Table 2, along with the potentials recalculated for MnTnBu-2-PyP complex¹³ according to the model given in Scheme 1. The most convenient way of navigating through the Scheme 1 is to calculate the corresponding values of $\Delta G_{\text{a}}^{0'} = -RT\ln K_{\text{a}}$ or $\Delta G^{0'} = -vFE^{0'}$, allowing simple calculation of the formal redox potentials. For instance, $E_6^{0'} = \Delta G^{0'}(\text{F} \rightleftharpoons \text{K})/F = \{\Delta G^{0'}(\text{D} \rightleftharpoons \text{K} + 2\text{H}^+) + \Delta G^{0'}(\text{D} \rightleftharpoons \text{E} + \text{H}^+) + \Delta G^{0'}(\text{E} \rightleftharpoons \text{F} + \text{H}^+)\}/F$ (the formal redox potentials for all experimentally available redox transitions are given in Table S2†).

The values shown in Table 1 reveal a gradual decrease of $\text{p}K_{\text{a}1}$ values of MnTE-2-PyP upon the increase of oxidation number of the coordinated manganese ion. The increased acidity of the coordinated water molecule is very probably caused by the strengthening of the Mn–O bond and consequent weakening of the O–H bond upon the building up of positive charge on the central metal ion. Rather small differences between $\text{p}K_{\text{a}1}$ of the reduced and oxidized forms of MnPs are probably caused by the additional coordination of a water molecule in the latter forms. The lower $\text{p}K_{\text{a}}$ for the *ortho* than *meta* derivatives is attributed to the proximity, and hence stronger electron-withdrawing effect of the pyridyl positive charges to the porphyrin ring.

The obtained thermodynamic parameters reveal that all the deprotonation reactions are accomplished by a significant decrease of entropy. The reported value of proton hydration entropy ($\Delta_{\text{hyd}}S(\text{H}^+) = -87.6 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$)³¹ clearly shows that the overall

reaction entropies are dominated mainly by the hydration entropy of the released proton, whereas the entropy changes related to the individual MnP moieties are all positive ranging from *ca.* $+7 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ up to $+72 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$. This can be explained by the weakened hydration of the deprotonated MnPs caused by a decrease of their overall charge upon the dissociation of one proton. As in case of MnTnBu-2-PyP ,¹³ the obtained reaction enthalpies for the deprotonation of $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{Ps}$ are indeed very close to the enthalpies for the second deprotonation of $\text{Mn}^{\text{III}}\text{Ps}$. However, all the enthalpy values obtained in this work, including the enthalpies for the first deprotonation of $\text{Mn}^{\text{III}}\text{Ps}$, are within the limits of experimental errors, making this thermodynamic parameter indecisive regarding the assignment of the $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{Ps}$ deprotonation processes to the diaqua or aqua-oxo species.

The calculated values in Table 2 differ somewhat from the previously published potentials determined by cyclic voltammetry.⁷ The differences in $E^{0'}$ vs. SHE are due to the differences in methodology and electrode calibration. Yet, importantly, the differences in $E_{1/2}$ among members of Mn(III) *N*-alkylpyridylporphyrin series remain and thus all relationships that have been based on $E_{1/2}$ are also correct.

It is interesting to inspect the values of the formal reduction potentials shown in Table 2. While the formal reduction potentials for the $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{Ps}/\text{Mn}^{\text{III}}\text{Ps}$ couples are all exergonic, the formal reduction potentials of the $\text{Mn}^{\text{III}}\text{Ps}/\text{Mn}^{\text{II}}\text{Ps}$ couples for both *ortho*-MnPs are still exergonic, though less positive, whereas for the *meta*-MnPs they switch to the endergonic (*i.e.* negative). This phenomenon is a consequence of a larger separation between the electron-withdrawing positive charges on the pyridinium substituent and the central Mn ion in the *meta* complexes, which decreases the Mn-site electron deficiency making Mn less apt to accept electrons. The results are consistent with the reported observation for MnTMPyP complexes, which show that the “ortho effect” observed for the Mn(III)/Mn(II) couple is greatly diminished in the case of the high-valent Mn(IV)/Mn(III) couple due to the mutual cancellation with the effect of $\text{p}K_{\text{a}1}$ and $\text{p}K_{\text{a}2}$ changes.⁶

Additionally, it is interesting to make a short inspection of the thermodynamic data collected in this work regarding the electron transfer processes. All the accessible couples that involve the double protonation are characterised by a positive entropy change. Its origin must be in the dehydration of the proton since

Table 4 The spectral characteristics of various MnP species obtained by the spectrophotometric pH titrations at $\theta = 25^\circ\text{C}$, $I = 2\text{ M}$ (NaClO_4)

Species	$m = 2$		$m = 3$	
	$\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$	$\varepsilon/10^5\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$	$\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$	$\varepsilon/10^5\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$
$(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{II}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{4+}$	437	2.021	441	2.601
$(\text{HO})\text{Mn}^{\text{II}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{3+}$	407 449	0.702 0.587	408 455	0.795 1.064
$(\text{H}_2\text{O})_2\text{Mn}^{\text{III}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{5+}$	455	1.384	462	1.549
$(\text{HO})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{III}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{4+}$	435 453(sh)	0.766	440 456(sh)	0.923
$(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{III}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{3+}$	443	1.300	446	1.562
$(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{4+}$	423	0.738	425	0.996
$(\text{O})(\text{HO})\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{3+}$	444	0.755	427	0.849

the positive entropy changes diminish in the reductions linked to the dissociations of only one proton and, even more so, in the reductions with no proton dissociation at all. Furthermore, at the ambient temperature, the main driving force of the reduction is the enthalpy change. Taking into account the convention by which the formation enthalpies of $\text{H}^+(\text{aq})$ and e^- equal zero at all temperatures, the calculated reaction enthalpies correspond to the transformation of related complex species. Therefore, the enthalpy decrease must be due either to the exothermic binding of proton(s) to the oxo ligand, or to the increased hydration of the complex species which undergoes the increase of charge from +4 to +5. The thermodynamics of proton binding can be circumvented by considering the reactions; $(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TE-}2\text{-PyP}^{4+}(\text{aq}) + \text{e}^- \rightarrow (\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{III}}\text{TE-}2\text{-PyP}^{3+}(\text{aq})$ and $(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TE-}3\text{-PyP}^{4+}(\text{aq}) + \text{e}^- \rightarrow (\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{III}}\text{TE-}3\text{-PyP}^{3+}(\text{aq})$. The calculated relative thermodynamic parameters are $\Delta H^\circ = -85\text{ kJ mol}^{-1}$, $\Delta S^\circ = -98\text{ J K}^{-1}\text{ mol}^{-1}$, and $\Delta H^\circ = -72\text{ kJ mol}^{-1}$, $\Delta S^\circ = -86\text{ J K}^{-1}\text{ mol}^{-1}$, respectively (Table 3). The entropy changes oppose the spontaneity of these two reductions, but the increase in enthalpies, caused by a decrease of the hydration of complex species as their positive charge is reduced, is by far exceeded by the exothermal electron affinity of these two Mn(IV) complex cations.

The electron affinities, *i.e.*, their opposites, the ionisation potentials, (which in turn can be compared to the ionisation potential of Mn^{3+}) can be calculated for $(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{4+}(\text{aq})$ species as the difference between the calculated absolute enthalpy changes (Table S1) and the hydration enthalpy changes caused by the reduction of these two ions. The hydration enthalpy changes for $(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{4+}(\text{aq})$ species have been calculated by means of a slightly modified Born equation,^{32,33} using the values of the aqueous cavity radii of $(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{III}}\text{TE-}2\text{-PyP}^{4+}(\text{aq})$ and $(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{III}}\text{TE-}3\text{-PyP}^{4+}(\text{aq})$ obtained by the preliminary chronocoulometric measurements ($r = 18.5\text{ \AA}$ and $r = 22.3\text{ \AA}$, respectively), and assuming in the first approximation that the rigidity of the porphyrin ring prevents a significant change of the cavity radius upon the oxidation/reduction. The calculated hydration enthalpy changes caused by the reduction of coordinated manganese from +4 to +3 are *ca.* 88 kJ mol^{-1} and 73 kJ mol^{-1} , respectively. This value approximates the electroaffinity to $\sim 600\text{ kJ mol}^{-1}$, which is close to the first ionisation energy of manganese (717.4 kJ mol^{-1}).³⁴ This may indicate that the positive charge on the manganese in $(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{4+}(\text{aq})$ is indeed mostly neutralized by the coordinated oxo and porphyrinato ligands.

All the MnTE-*m*-PyP complexes exhibit an intense Soret band between 407 and 455 nm, but the hydroxo-complexes display an

additional strong peak or shoulder in that spectral region (Table 4). It is not clear whether or not the space orientation of the hydroxo ligand itself could cause such a molecular symmetry decrease in these complexes, since such an effect is not observed for the $(\text{O})(\text{HO})\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{3+}$. If the space orientation of the hydroxo ligand causes such an effect, the spectra of double-deprotonated complex species would all indicate a preference for the oxo- over dihydroxo prototropic structures.

The UV peaks of all aqua-Mn^{II}Ps show red shift upon the manganese oxidation to Mn(III) ion, possibly due to the electron-withdrawing nature of the central metal ion in the higher oxidation state which caused the electronic density on the porphyrin macrocycle to decrease to a certain degree. This in turn decreases the conjugation throughout the ring and causes the reduction of the electron transition energy of the porphyrin macrocycle, accounting for the red shift in its UV absorption peak. An opposite direction peak-shift is caused by the deprotonation of the aqua MnPs, by which the electron density in the porphyrin ring is increased, increasing the conjugation and in turn the electron transition energies as well. Upon the oxidation of manganese from +3 to +4 in $(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{III}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{3+}$, a blue shift was also observed, which was much smaller in the *meta* derivative, in accordance with the above mentioned difference in the proximity of the electron withdrawing group on the porphyrin. The similar spectral characteristics are exhibited by the butyl derivative as well,¹³ showing that the length of the side chains has little effect on the spectral shapes and peak positions of the MnP complexes.

In conclusion, our results reveal that in aqueous solutions in the pH range $\sim 2\text{--}13$ the following accessible species exist: $(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{II}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{4+}$, $(\text{HO})\text{Mn}^{\text{II}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{3+}$, $(\text{H}_2\text{O})_2\text{Mn}^{\text{III}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{5+}$, $(\text{HO})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{III}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{4+}$, $(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{III}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{3+}$, $(\text{O})(\text{H}_2\text{O})\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{4+}$ and $(\text{O})(\text{HO})\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TE-}m\text{-PyP}^{3+}$. We have determined all the protolytic equilibrium constants that include these species as well as the thermodynamic parameters of the relevant protolysis reactions. The corresponding formal reduction potentials related to the reduction of the above species and the thermodynamic parameters describing the accessible reduction couples were calculated as well.

While for the speciation of Mn^{II}TE-*m*-PyPs the obtained results entirely confirm the reaction model proposed for the Mn^{II}TnBu-2-PyP, the previous attribution of the observed species for Mn^{IV}TnBu-2-PyP that was based on the thermodynamic parameters alone, erroneously proposed $(\text{H}_2\text{O})_2\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TnBu-2-PyP}^{6+}$, $(\text{O})(\text{HO})\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TnBu-2-PyP}^{3+}$ and $(\text{O})_2\text{Mn}^{\text{IV}}\text{TnBu-2-PyP}^{2+}$ as the experimentally inaccessible species.¹³ Therefore, the presented results proved that the derivation of a correct reaction model

based only on the thermodynamic data could be rather misleading, indicating the necessity of a more comprehensive approach, including the investigation of electrochemical properties of MnP complexes as well.

Acknowledgements

The authors are thankful to the Croatian Ministry of Science (MZOŠ grant: 006-0061247-0009) and to Duke University's CTSA grant 1 UL 1 RR024128-01 from NCRR/NIH for their financial support.

References

- 1 I. Batinić-Haberle, L. Benov, I. Spasojević, P. Hambright, A. L. Crumbliss and I. Fridovich, *Inorg. Chem.*, 1999, **38**, 4011–4022.
- 2 A. Budimir, J. Kalmar, I. Fabian, L. Gabor, I. Banyai, I. Batinić-Haberle and M. Biruš, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2010, **39**, 4405–4410.
- 3 I. Batinić-Haberle, J. S. Rebouças, L. Benov, I. Spasojević, in *Handbook of Porphyrin Science vol. 11*, K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guillard, ed., World Scientific, 2010, *in press*.
- 4 I. Batinić-Haberle, I. Spasojević, H. M. Tse, A. Tovmasyan, D. K. St. Clair, Z. Vujaskovic, M. W. Dewhirst and J. D. Piganelli, *Amino Acids*, 2010, DOI: 10.1007/s726-010-0603-06.
- 5 I. Batinić-Haberle, J. S. Rebouças and I. Spasojević, *Antioxid. Redox Signaling*, 2010, **13**, 877, DOI: 10.1089/ars.2009.2876.
- 6 G. Ferrer-Sueta, I. Batinić-Haberle, I. Spasojević, I. Fridovich and R. Radi, *Chem. Res. Toxicol.*, 1999, **12**, 442–449.
- 7 I. Batinić-Haberle, I. Spasojević, R. D. Stevens, P. Hambright and I. Fridovich, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2002, 2689–2696.
- 8 I. Kos, L. Benov, I. Spasojević, J. S. Rebouças and I. Batinić-Haberle, *J. Med. Chem.*, 2009, **52**, 7868–7872.
- 9 F. C. Chen, S.-H. Cheng, C.-H. Yu, M.-H. Liu and Y. O. Su, *J. Electroanal. Chem.*, 1999, **474**, 52–59.
- 10 A. Harriman, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1984, 141–146.
- 11 (a) S. Jeon and T. C. Bruice, *Inorg. Chem.*, 1992, **31**, 4843–4848; (b) R. D. Arasasingham and T. C. Bruice, *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, **113**, 6095–6103.
- 12 A. Bettelheim, D. Ozer and D. Weinraub, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1986, 2297–2301.
- 13 A. Budimir, T. Šmuc, T. Weitner, I. Batinić-Haberle and M. Biruš, *J. Coord. Chem.*, 2010, **63**, 2750–2765.
- 14 I. Kos, J. S. Rebouças, G. DeFreitas-Silva, D. Salvemini, Z. Vujaskovic, M. W. Dewhirst, I. Spasojević and I. Batinić-Haberle, *Free Radical Biol. Med.*, 2009, **47**, 72–78.
- 15 R. Kachadourian, I. Batinić-Haberle and I. Fridovich, *Inorg. Chem.*, 1999, **38**, 391–392.
- 16 J. G. Leiboldt, L. D. C. Bok and P. J. Cilliers, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 1974, **409**, 343–344.
- 17 W. R. Bucknall and W. Wardlaw, *J. Chem. Soc.*, 1927, 2981–2992.
- 18 G. W. Gray and J. T. Spence, *Inorg. Chem.*, 1971, **10**, 2751–2755.
- 19 H. Gampp, M. Maeder, C. J. Meyer and A. D. Zuberbühler, *Talanta*, 1985, **32**, 95–101.
- 20 H. Gampp, M. Maeder, C. J. Meyer and A. D. Zuberbühler, *Talanta*, 1985, **32**, 257–264.
- 21 H. Gampp, M. Maeder, C. J. Meyer and A. D. Zuberbühler, *Talanta*, 1986, **33**, 943–951.
- 22 A. Harriman and G. Porter, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, 1979, **275**, 1532–1552.
- 23 N. H. William and J. K. Yandell, *Aust. J. Chem.*, 1982, **35**, 1133–1144.
- 24 N. Cioffi, I. Losito, R. Terzano and C. G. Zamboni, *Analyst*, 2000, **125**, 2244–2248.
- 25 E. G. Ball, *J. Biol. Chem.*, 1937, **118**, 219–239.
- 26 S. Trasatti, The Absolute Electrode Potential: an Explanatory Note (Recommendations 1986), *Pure Appl. Chem.*, 1986, **58**, 955–966.
- 27 J. Lee, J. A. Hunt and J. T. Groves, *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, **120**, 6053–6061.
- 28 F. C. Chen, S. H. Cheng, C. H. Yu, M. H. Liu and Y. O. Su, *J. Electroanal. Chem.*, 1999, **474**, 52–59.
- 29 A. Harriman, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1984, 141–146.
- 30 L. J. Boucher, *Coord. Chem. Rev.*, 1972, **7**, 289.
- 31 R. Schmid, A. M. Miah and V. N. Sapunov, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2000, **2**, 97–102.
- 32 A. A. Rashin and B. Honig, *J. Phys. Chem.*, 1985, **89**, 5588–5593.
- 33 A. A. Rashin and B. Honig, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1986, **482**, 143–144.
- 34 (a) J. E. Huheey, E. A. Keiter, R. L. Keiter, in *Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity*, 4th edition, HarperCollins, New York, USA, 1993; (b) A. M. James, M. P. Lord, in *Macmillan's Chemical and Physical Data*, Macmillan, London, UK, 1992.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Zavod za opću i anorgansku kemiju
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Doktorski rad

Kiselo-bazna i elektrokemijska svojstva *meso*(*ortho*- i *meta*-*N*-alkilpiridil) manganoporfirina

Tin Weitner

SAŽETAK

Istraživanje oksidativnog stresa stanica i molekula koje mogu umanjiti ili ukloniti oštećenja stanica uzrokovana njime predmetom je velikog interesa suvremenih istraživanja. Molekulne vrste koje uzrokuju oksidativni stres su reaktivne vrste kisika (ROS) i dušika (RNS), poput superoksidnog aniona ($O_2^{\cdot-}$), peroksinitrita ($ONOO^{\cdot-}$) ili hidroksilnog radikala (OH^{\cdot}). Djelotvornu obranu stanice od $O_2^{\cdot-}$ čine enzimi iz klase superoksid-dismutaza (SOD) koji kataliziraju reakciju $2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$. Potraga za terapijskim sredstvima koja bi mogla neutralizirati $O_2^{\cdot-}$ dovela je do razvoja makrocikličkih kompleksa prijelaznih kovina kao potencijalnih redoks-aktivnih terapeutika. Zahvaljujući iznimnim elektronskim svojstvima, osobito djelotvornima pokazali su se spojevi iz klase manganoporfirina (MnP) koji mogu stvarati redoks cikluse sa staničnim reducensima poput glutationa, tetrahidrobiopterina ili askorbinske kiseline.

Pojačana djelotvornost manganoporfirinskih mimetika SOD postignuta je supstitucijom porfirinskog prstena, čime dolazi do promjene redukcijskog potencijala kovinskog iona. Alkilacijom piridilskih prstena *meso*(*orto*-tetrapiridil) manganoporfirina postignut je redukcijski potencijal vrlo blizak optimalnom, pri čemu se svojom aktivnošću ističe *meso*(*orto*-tetraetilpiridil) manganoporfirin, MnTE-2-PyP. Pored prikladnog formalnog redukcijskog potencijala, za uspješnost djelovanja manganoporfirina *in vivo* ključna je njihova lipofilnost. Povećanje lipofilnosti može se postići pomicanjem alkilnih supstituenata iz *orto*- u *meta* položaje, te su nedavno sintetizirani *meso*(*meta*-tetraalkilpiridil) manganoporfirini, uključujući *meso*(*meta*-tetraetilpiridil) manganoporfirin, MnTE-3-PyP.

U prvom dijelu ovog rada istražena su kiselo-bazna svojstva *meso*(*orto*- i *meta*-tetraetilpiridil) manganoporfirina. U vodenim otopinama manganoporfirini koordiniraju do dvije aksijalno smještene molekule vode čija deprotonacija može imati velik utjecaj na redukcijski potencijal manganoporfirina i time na njihovu citoprotektivnu djelotvornost. U vodenim otopinama kompleksa MnP u rasponu vrijednosti pH 2-13 potvrđeno je postojanje sljedećih specija: $(H_2O) Mn(II)TE-m-PyP^{4+}$, $(HO) Mn(II)TE-m-PyP^{3+}$, $(H_2O)_2 Mn(III)TE-m-PyP^{5+}$, $(H_2O)(HO) Mn(III)TE-m-PyP^{4+}$, $(O)(H_2O) Mn(III)TE-m-PyP^{3+}$, $(O)(H_2O) Mn(IV)TE-m-PyP^{4+}$ i $(O)(HO) Mn(IV)TE-m-PyP^{3+}$ ($m = 2, 3$). Spektrofotometrijskim titracijama određene su sve konstante disocijacije koje povezuju navedene specije u navedenom rasponu vrijednosti pH, kao i termodinamički parametri navedenih konstanta disocijacije. S obzirom da je vrijednost redukcijskog potencijala ključna za njihovo biološko djelovanje, u drugom dijelu ovog rada istražena su elektrokemijska svojstva *meso*(*orto*- i *meta*-tetraetilpiridil) manganoporfirina. Cikličkom voltametrijom određeni su apsolutni formalni redukcijski potencijali i formalni redukcijski potencijali prema standardnoj vodikovoj elektrodi koji povezuju navedene specije u rasponu vrijednosti pH 2-13, kao i termodinamički parametri navedenih formalnih redukcijskih potencijala. Također su određeni elektrokemijski parametri elektronskih prijelaza navedenih specija i potvrđeni računalnim simulacijama mjerenja. Kronokulometrijskim mjerenjima određeni su difuzijski koeficijenti specija MnP i procijenjene veličine njihovih vodenih šupljina. Naposljetku, konstruirana je potpuna shema koja bi mogla opisati ponašanje kompleksa MnP u vodenim otopinama navedenom rasponu vrijednosti pH, s obzirom na navedene disocijacijske i redoks ravnoteže.

Rad je pohranjen u Centralnoj knjižnici Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Rad sadrži: 175 stranica, 138 grafička prikaza, 26 tablica i 92 literaturna navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: metaloporfirini, spektrofotometrija, ciklička voltometrija, kronokulometrija, spektroelektrokemija, konstante disocijacije, elektrokemijski parametri, termodinamika

Mentor: Dr. sc. Mladen Biruš, redoviti profesor, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Ocjenjivači: Dr. sc. Olga Kronja, redoviti profesor, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Dr. sc. Mladen Biruš, redoviti profesor, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Dr. sc. Zoran Mandić, izvanredni profesor, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.

Rad prihvaćen: rujan 2010.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Department of General and Inorganic Chemistry
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

PhD thesis

Acid-base and Electrochemical Properties of Manganese *meso*(*ortho*- and *meta*-*N*-alkylpyridyl)porphyrins

Tin Weitner

SUMMARY

There has been a great deal of interest in the research of cellular oxidative stress and particularly the molecules which could alleviate the damage it can cause. Molecular species causing oxidative stress are the reactive oxygen (ROS) and nitrogen species (RNS), such as superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$), peroxynitrite ($ONOO^{\cdot-}$) or hydroxyl radical (OH^{\cdot}). A class of enzymes called the superoxide dismutases (SOD), catalyzing the reaction $2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$, constitutes an effective cellular protection from oxidative damage. Macrocyclic complexes of transition metals have been developed as potential redox-active therapeutics able to neutralize $O_2^{\cdot-}$. The compounds from the class of manganese porphyrins (MnPs) have been shown to be particularly effective, due to their unique electronic properties enabling them to construct redox cycles that involve the consumption of superoxide and NO-derived oxidants at the expense of readily available biochemical reductants like glutathione, tetrahydrobiopterine or ascorbic acid. The increased activity of MnPs has been achieved by attenuating the metal-centered redox potential using various substituents to the porphyrin ring. The alkylation of the *meso*(*ortho*-tetrapyrrolyl) MnP yielded the redox potential close to optimal and one of the most active compounds was found to be the *meso*(*ortho*-tetraethylpyridyl) derivative, MnTE-2-PyP. Besides the appropriate redox potential, the efficiency of MnPs as scavengers of reactive species is influenced by their lipophilicity. Changing the position of alkyl substituents from *ortho*- to *meta*- positions on the porphyrin ring increases lipophilicity and new *meso*(*meta*-tetraalkylpyridyl) derivatives have been synthesized recently, including *meso*(*meta*-tetraethylpyridyl) derivative, MnTE-3-PyP.

In the first part of this work, acid-base properties of *meso*(*ortho*- i *meta*-tetraethylpyridyl) MnPs have been investigated. In aqueous solutions MnP complexes can coordinate two axial water molecules which can deprotonate and have a significant influence on the redox potential of MnPs and therein their citoprotective activity. The following species have been confirmed to exist in aqueous solutions in the pH range 2-13: $(H_2O) Mn(II)TE-m-PyP^{4+}$, $(HO)Mn(II)TE-m-PyP^{3+}$, $(H_2O)_2Mn(III)TE-m-PyP^{5+}$, $(H_2O)(HO)Mn(III)TE-m-PyP^{4+}$, $(O)(H_2O)Mn(III)TE-m-PyP^{3+}$, $(O)(H_2O)Mn(IV)TE-m-PyP^{4+}$ and $(O)(HO)Mn(IV)TE-m-PyP^{3+}$ ($m = 2, 3$). Using the combined potentiometric and spectrophotometric measurements all dissociation constants connecting these species have been determined, as well as the thermodynamic parameters of dissociation reactions.

Considering that the redox potential of MnPs is crucial for their biological activity, in the second part of this work the electrochemical properties of *meso*(*ortho*- and *meta*-tetraethylpyridyl) MnPs have been investigated. The absolute formal potentials and the formal potentials vs. standard hydrogen electrode have been determined by cyclic voltammetry in the pH range 2-13 and the thermodynamic parameters of these formal potentials have been determined as well. Additionally, the electrochemical parameters of these electron transitions have been determined and confirmed by computer simulations. Chronocoulometric measurements enabled the determination of the diffusion coefficients of the MnP species and the sizes of their water cavities have been estimated. Finally, a complete scheme describing the behaviour of MnP complexes in aqueous solutions in the pH range 2-13 has been constructed, taking into account the dissociation and redox equilibria.

The thesis is deposited in the Central Library of Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 175 pages, 138 figures, 26 tables and 92 references. Original is in Croatian language.

Keywords: metalloporphyrins, spectrophotometry, cyclic voltammetry, chronocoulometry, spectroelectrochemistry, dissociation constants, electrochemical parameters, thermodynamics

Menthor: Mladen Biruš, Ph.D. Professor, Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb.

Reviewers: Olga Kronja, Ph.D. Professor, Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb.

Mladen Biruš, Ph.D. Professor, Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb.

Zoran Mandić, Ph.D. Assistant Professor, Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb.

The thesis accepted: September 2010.